

ALAN

Volumen 47. N° 4. Diciembre 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

Organo Oficial de la
Sociedad Latinoamericana de Nutrición

VOL 47

DICIEMBRE 1997

Nº 4

Contenido

	Páginas
ARTICULOS GENERALES	
Programas de nutrición escolar en América Latina. Un análisis Hugo Amigo C.....	299
TRABAJOS DE INVESTIGACION	
Nutrición Humana	
Estado nutricional de gestantes adolescentes en São Paulo, Brasil Elizabéth Fujimori, Ida María Vianna de Oliveira, Luz Marina Núñez de Cassana y Sophia Cornbluth Szarfarc.....	305
Evaluación del estado de zinc en adultos mayores institucionalizados Lesbia Meertens de R., Liseti Solano y Evelyn Peña.....	311
Relación del índice cintura/cadera con la masa y el porcentaje de grasa corporal Yolanda Hernández de Valera y Rosa A Hernández H.....	315
Bioquímica Nutricional	
Efeito da pectina e celulose nos níveis de somatomedina C e síntese de proteoglicano no músculo e cartilagem de ratos Julio Tirapegui, Gloria Silva, Kristine Bruscatto, Ana Paula Silvatti, Solange Tomoe Osuka.....	323
Reliability of the Western ligand blot method for the simultaneous relative estimations of serum insulin-like growth factor binding proteins (IGFBPs) María Teresa Ochoa, Karin Fhølenhag, Kjell Malmlöf, Myriam Sánchez-Gómez, Anna Skottner.....	331
Duración de la vida en ratas desnutridas, utilizando dieta básica del nordeste brasileño Eunice Salzano Lago, Naide Regueira Teodósio, Débora Catarine N. de Pontes Pessoa, Joé Eulálio Cabral Filho.....	338

Ciencia de Alimentos

Propiedades funcionales de la proteína de cuji (*Prosopis juliflora*)

Ingrid Holmquist-Donquis y Gleywer Ruíz de Rey..... 343

Germinação de soja BR-13 e Paraná: Efeito sobre os constituintes minerais

Mara Lucia Luiz Ribeiro, Elza Iouko Ida y Maria Cristina Neves de Oliveira..... 352

Concentrado proteico de *Amaranthus mantegazzianus*. Caracterización físico - químico - biológica

Norma de Luquez, Silvia Fernández, Mirta L. de Arellano y Sara I. de Mucciarelli..... 359

Efecto de adición de sal, tipo de corte y temperatura inicial de cocción sobre el contenido de proteínas y lípidos en caldos de carne: I. Carne de vacuno

Zaida Gotera-Prado, Jorge B. Quintero, Nelson Huerta-Leidenz y Zaida Prado Gotera..... 362

Tecnología de Alimentos

Pontos críticos de controle no fluxograma de beneficiamento do leite pasteurizado

Ana Catarina de Souza Lopes & Tânia Lúcia Montenegro Stamford..... 367

Vida de anaquel y evaluación sensorial en tortillas de maíz elaboradas con conservadores y mejoradores

José Juan Ordaz Ortíz y María Gricelda Vásquez Carrillo..... 372

Evaluación de la calidad nixtamalera-tortillera de mezclas maíz-frijol endurecido (*Zea mays-Phaseolus vulgaris*)

C. García-Osorio, y M.G. Vásquez Carrillo..... 377

Nutrición Animal

Elaboración de una harina integral de yuca (*N. esculenta Crantz*) para alimentación de pollitos de engorde.

I. Caracterización químico-nutricional de hojas, raíces y harina integral de yuca

Julio Ballinas Díaz, Carlos Cruz Mondragón, Rutilo Castellanos Molina y Alfredo Larios Saldaña..... 382

Elaboración de una harina integral de yuca (*N. esculenta Crantz*) para alimentación de pollitos de engorde.

II. Evaluación de una harina integral de yuca en pollitos de engorde

Julio Ballinas Díaz, Alfredo Larios Saldaña, Carlos Cruz Mondragón, Rutilo Castellanos Molina y Ernesto Avila González..... 387

NOTAS..... 391

INFORMACION PARA LOS AUTORES..... 393

INDICE GENERAL DEL VOLUMEN 47, 1997..... 400

INDICE DE AUTORES..... 404

INDICE DE MATERIAS..... 411

Archivos Latinoamericanos de Nutrición

Official Publication of the
Latin American Society of Nutrition

VOL 47

DECEMBER 1997

Nº 4

Contents

	Pages
GENERAL ARTICLES	
School Feeding Programmes in Latin America. An analyses. Hugo Amigo C.....	299
RESEARCH PAPERS	
Human Nutrition	
Nutritional status of adolescent pregnancy in São Paulo, Brazil Elizabeth Fujimori, Ida María Vianna de Oliveira, Luz Marina Núñez de Cassana and Sophia Cornbluth Szarfarc.....	305
Zinc status of an elderly institutionalized population Lesbia Meertens de R., Liseti Solano and Evelyn Peña.....	311
Relationship between body mass index and percentage of corporal fat Yolanda Hernández de Valera and Rosa A Hernández H.....	315
Nutritional Biochemistry	
Effect of pectin and cellulose on insulin-like growth factor (IGF-I) levels and proteoglycan synthesis rate in muscle and rat cartilage Julio Tirapegui , Gloria Silva, Kristine Bruscatto, Ana Paula Silvatti, Solange Tomoe Osuka.....	323
Reliability of the Western ligand blot method for the simultaneous relative estimations of serum insulin-like growth factor binding proteins (IGFBPs) María Teresa Ochoa, Karin Fhølenhag, Kjell Malmlöf, Myriam Sánchez-Gómez, Anna Skottner.....	331
Life span of malnourished rats fed the Regional Basic Diet (RBD) of Northeast of Brazil Eunice Salzano Lago, Naíde Regueira Teodósio, Débora Catarine N. de Pontes Pessoa, Joé Eulálio Cabral Filho.....	338

Food Science

Functional properties of mesquite bean protein (*Prosopis juliflora*)

Ingrid Holmquist-Donquis and Gleywer Ruíz de Rey..... 343

Germination of soybean BR-13 e Paraná: Effect on the minerals constituents

Mara Lucia Luiz Ribeiro, Elza Iouko Ida and Maria Cristina Neves de Oliveira..... 352

Protein concentrate from *Amaranthus mantegazzianus*. Physicochemical - biological characterization

Norma de Luquez, Silvia Fernández, Mirta L. de Arellano and Sara I. de Mucciarelli..... 359

Effects of salting, cut type, and simmering temperature on protein and fat contents of meat broths. I. Beef

Zaida Gotera-Prado, Jorge B. Quintero, Nelson Huerta-Leidenz and Zaida Prado Gotera..... 362

Food Technology

Critical control points in the pasteurized milk processing fluxogram

Ana Catarina de Souza Lopes and Tânia Lúcia Montenegro Stamford..... 367

Shelf-life and sensory evaluation of corn tortillas, made with preservatives and texture conditioners

José Juan Ordaz Ortiz and María Gricelda Vásquez Carrillo..... 372

Evaluation of the nixtamal-tortilla-making quality of mixtures of maize (*Zea mays*) and hard beans (*Phaseolus vulgaris*)

C. García-Osorio, and M.G. Vásquez Carrillo..... 377

Animal Nutrition

Production of cassava whole meal (*N. esculenta Crantz*) to elaborate a feed growing chicks.

I. Chemical and nutritive characterization of leaves, roots and cassava whole meal

Julio Ballinas Díaz, Carlos Cruz Mondragón, Rutilo Castellanos Molina and Alfredo Larios Saldaña..... 382

Production of cassava whole flour (*N. esculenta Crantz*) to elaborate a feed growing chicks.

II. Evaluation of cassava whole flour in growing chicks

Julio Ballinas Díaz, Alfredo Larios Saldaña, Carlos Cruz Mondragón, Rutilo Castellanos Molina and Ernesto Avila González 387

NOTES..... 391

INFORMATION TO AUTHORS..... 393

GENERAL INDEX OF VOLUME 47, 1997..... 400

AUTHOR INDEX..... 404

SUBJECT INDEX..... 411

Programas de nutrición escolar en América Latina. Un análisis

Hugo Amigo C.

Departamento de Nutrición. Facultad de Medicina, Universidad de Chile

RESUMEN. Los gobiernos de la región invierten considerables recursos en los Programas de Alimentación Escolar y estos constituyen parte de las estrategias educacionales y sociales hacia los grupos de alta vulnerabilidad social. Este documento analiza los criterios que tienen los programas para seleccionar beneficiarios, los alimentos entregados, la forma como están operando y las lecciones aprendidas, considerando la heterogeneidad de las estrategias de desarrollo de los países. En la actualidad estas estrategias se basan en la eficiencia en la utilización del gasto público orientando los recursos a los grupos que más lo necesitan, abandonándose la utilización del concepto de universalización y haciendo uso del de focalización de intervenciones. La mayoría de los países entregan gratuitamente algún tipo de alimentación diaria (desayuno, almuerzo, merienda o simplemente un vaso de leche) a través del año escolar que varía según los países cubriendo hasta 1000 calorías diarias y 30 gramos de proteínas. Con respecto a la ejecución de los programas, el «Estado» ha ido dejando el manejo integral del programa, que incluía comprar, preparar y entregar los alimentos a los beneficiarios y en algunos lugares, incluso los producía, para reservarse un papel de planificación, supervisión y control. En la actualidad el esfuerzo privado ha ido asumiendo cada vez más un rol protagónico y la participación de la comunidad un papel muy limitado. Se espera que este documento sirva como elemento de reflexión y de discusión para quienes tienen la responsabilidad de formular, ejecutar y evaluar intervenciones nutricionales en la edad escolar.

Palabras Clave: Nutrición escolar; Programas sociales; Intervenciones nutricionales.

SUMMARY. School Feeding Programmes in Latin America. An analyses. Governments in Latin American countries invest large amounts of resources in school feeding programmes, part of educational and social strategies to reach highly vulnerable group within the respective societies. We analysed the criteria used in selecting the beneficiaries of these programmes, the food distributed, management structures and lessons that have been learned from these processes. Differences found among development strategies in each country were also considered. At present, these strategies are centred on the efficient use of resources, focusing interventions on the neediest groups, and leaving aside the idea of universal benefits. In general, countries provide most types of food, such as breakfast lunch, snacks or just a glass of milk, free of charge. Recipients receive up to 1.000 calories and 30g of selected protein per day. About execution; Latin American States have generally abandoned the integral management of these programmes, a former characteristic that included the purchasing of or production, preparation and delivery of specific food stuffs. Instead, the respective States have only maintained the organisational functions of planning and control of priority actions whilst the private sector has progressively taken an active part in developing strategies. Community participation is restricted to a minimum. We expect that this paper will be taken into consideration by those who bear the responsibility of formulating, executing and evaluating nutritional interventions directed at schoolchildren in selected Latin American regions.

Key words: School feeding programs, Social Programs, Nutrition Intervention

INTRODUCCION

1. **Consideraciones generales:** Los programas nutricionales han ocupado un lugar central en las políticas sociales que han formulado los países de América Latina con el fin de atender necesidades básicas de amplios sectores sociales, siendo uno de los programas más generalizados la entrega de alimentos a nivel de las escuelas.

Debe mencionarse que a los programas nutricionales para la edad escolar se les ha vinculado a propósitos complementarios y simultáneos para mejorar la educación, la

salud y la nutrición de la población escolar, al cual se le han dedicado importantes recursos, estos hechos sugieren la realización de periódicas evaluaciones, aunque desafortunadamente estas han sido escasas.

La etapa escolar se caracteriza por un crecimiento constante, que se ve acelerado durante el período de la pubertad y es el período en que el menor conoce sus habilidades, desarrolla su socialización y se ve sometido al proceso de aprendizaje formal, que trae consigo, exigencias que son evaluadas a través del renacimiento escolar.

En algunos países de América Latina existe una mala distribución de la riqueza, escasa disponibilidad de alimentos, alta incidencia de desnutrición, bajo rendimiento y deserción escolar, antecedentes que sugieren la necesidad de establecer intervenciones en esta etapa de la vida, para aquellos grupos más vulnerables (1).

Presentado en la Primera Conferencia Nacional de Nutrición realizada en ciudad de Panamá en Agosto de 1996.

Los programas nutricionales han evolucionados en América Latina, inicialmente su formulación se vio facilitada por la acción totalizadora del Estado donde los responsables por los programas alimentarios cansados de recibir los efectos de los problemas nutricionales decidieron enfrentar la situación detectada produciendo sus propios alimentos y fomentando que las comunidades participaran en la solución de sus propios problemas nutricionales (2). En esa época el aparato público asumía un rol preponderante en la formulación, orientación y fiscalización. En la actualidad con la adopción de la estrategia del libre mercado ha disminuido la ingerencia del Estado, aunque esta no es homogénea y hay lugares donde todavía hay una alta concentración de actividades por el aparato público.

En la actualidad los programas nutricionales se basan en la estrategia de concentrar esfuerzos en los más necesitados ya sean estos del punto de vista social, económico o biológico. Estas acciones están vinculadas en las premisas de disminuir el gasto público y en la eficiencia de su uso (8). Esta estrategia implica la selección precisa del grupo objetivo al cual estarán dirigidos los beneficios, aunque en la mayoría de los programas sociales esta selección se confunde con la caracterización de la pobreza, lo que no son necesariamente sinónimos.

En América Latina esta estrategia ha sido aplicada con algún exceso en algunos países, en el cual se han detectado errores de exclusión, que posteriormente ha obligado a realizar correcciones con el objetivo que estas acciones se dirijan a los que realmente lo necesitan.

Ante lo expresado anteriormente es lícito preguntarse ¿qué tipo de programas ejecutar y cuál debe ser la finalidad de ellos?, ¿cuál debe ser tu orientación y alcance en los países en vías de desarrollo? considerando la heterogeneidad de las estrategias de desarrollo.

Otras interrogantes están orientadas a constatar el efecto nutricional de estos programas entregados. ¿Si existe un criterio de equidad en distribución de los recursos? ¿cuáles son las modalidades más eficientes para la entrega y supervisión del servicio entregado?. Estas y otras interrogantes serán analizadas en este trabajo.

El propósito de este documento es analizar los programas alimentarios nutricionales para el escolar en algunos países de América Latina, desde el punto de vista de sus objetivos, las alternativas utilizadas para seleccionar beneficiarios, las características de los beneficios, la forma de operacionalizarlos y las lecciones aprendidas. Se espera que este documento sirva como elemento de reflexión y de discusión para quienes tienen la responsabilidad de formular, ejecutar y evaluar intervenciones en la edad escolar.

2. Análisis de los objetivos y alcances de los programas nutricionales en el período escolar:

2.1 Objetivos: La interrogante clave es ¿si tiene sentido formular programas alimentarios escolares?. La res-

puesta es afirmativa, porque esta es la etapa de la vida en que se consolidan hábitos y por lo tanto todavía hay posibilidades de corregir desviaciones adquiridas en su vida previa. Además son altamente justificables en los lugares donde las malas condiciones alimentarias son prevalentes. Sin embargo, hay que tener en cuenta que una alternativa es la modificación de hábitos alimentarios y otra la de reducir y/o aliviar deficiencias nutricionales existentes.

Con respecto a la reducción de los problemas nutricionales por déficit en la edad escolar hay que tener en cuenta dos consideraciones:

- Que el crecimiento que ocurre en los niños que ingresan a la enseñanza básica es menor al que ocurre en otras etapas de la vida, alrededor de 6 cm por año, comparados con el primer año que se crecen 25 cm y el de la pubertad en que se alcanza a crecer en promedio 12 cm al año.
- Que los requerimientos nutricionales en términos globales son mayores que en las etapas previas y por lo tanto es difícil suplir cubrir una proporción significativa de ellos en este período de la vida.

Lo anterior indicaría que los programas nutricionales para el escolar de enseñanza básica, muy difícilmente puede corregir los déficit nutricionales existentes. Lo más coherente es que estos tengan principalmente objetivos educacionales tales como mejorar el rendimiento escolar, evitar la deserción o disminuir el ausentismo.

Esto es válido en circunstancias relativamente normales de condiciones nutricionales de las poblaciones. Por cierto, en lugares donde la insuficiencia de alimentos constituye un problema, la entrega de cualquier suplemento alimentario debe tener la finalidad de aliviar las consecuencias de su falta y debido a la alta cobertura que alcanza la educación básica en muchos países en vías de desarrollo, ésta constituye una interesante alternativa de abordar esta población. Otro elemento a considerar al utilizar esta alternativa es que se alcanza directamente al beneficiario, evitándose la dilución intrafamiliar de los alimentos pudiéndose asegurar la ingesta de ellos por la población escolar.

También la escuela constituye una vía apropiada para intervenciones alimentarias destinadas a combatir deficiencias nutricionales específicas tales, como las de micronutrientes o hipovitaminosis, mediante la entrega de alimentos fortificados o enriquecidos.

2.2 Alcance de los programas: Intervenciones como la entrega de alimentos no se pueden confundir con programas alternativos para el combate a la pobreza. Su erradicación es una obligación de la sociedad con la finalidad de alcanzar justicia social, en ese sentido un programa alimentario dirigido a los grupos vulne-

rables no es alternativa a los objetivos del desarrollo, sino un complemento para alcanzar desarrollo social. Para algunas personas el formular intervenciones destinadas a aliviar las consecuencias de los problemas nutricionales por déficit, constituía un freno al necesario proceso de cambio que se debe realizar, para resolver definitivamente la situación de las poblaciones afectadas. Esta es una opinión respetable y se puede enmarcar en las estrategias para conseguir un desarrollo equitativo de una población, sin embargo estas opciones de cambio no son soluciones fáciles e históricamente obedecen a un proceso gradual cuya intensidad puede variar de un lugar a otro.

El desarrollo sustentable de las comunidades es una estrategia coherente, para combatir la pobreza y evitar la marginalidad social. En ese sentido la formulación y ejecución de intervenciones nutricionales no es una alternativa individual, sino que debe verse como una actividad adicional en la búsqueda de un cambio que permita que los beneficios alcancen a la totalidad de la población. La gran mayoría de los gobiernos de América Latina destinan recursos para los programas de alimentación, aunque el monto de estas inversiones es heterogénea. En la actualidad existe una discusión sobre cual debe ser el monto más adecuado, aunque los países que han dedicado mayores volúmenes de recursos tienen los más bajos índices de déficit de crecimiento físico, desnutrición y mejores condiciones de salud y calidad de vida en general (9).

3. **Beneficiarios:** Las actuales estrategias de desarrollo tienen como elemento básico el tener una alta eficiencia en la utilización del gasto público, orientando los recursos a los grupos de mayor vulnerabilidad biológica o social.

Los programas deben dirigirse a beneficiarios que realmente lo necesitan, dejándose de lado el concepto de universalización y utilizándose el de focalización, por lo tanto cada vez más se realizan mayores esfuerzos para seleccionar en forma precisa los beneficiarios.

La selección se ha transformado en un desafío, superándose a la fase de la selección exclusivamente por criterios biológicos o fisiológicos y así hoy es difícil observar que ésta se efectúe solamente por grupo de edades o si la madre es embarazada o nodriza.

El ingreso económico familiar ha sido utilizado como indicador de selección, así se han identificados beneficiarios a grupos que pertenecen a familias que tienen ingresos inferiores a un determinado nivel (salario mínimo o múltiplos de él). Esta puede ser una estrategia correcta para discernir riesgo socioeconómico, no obstante se ha señalado dificultades logística para operacionalizar esta fórmula, indicándose subregistro de estos ingresos (especialmente cuando la renta familiar no proviene de un valor fijo periódico), también en la clase social baja los ingresos son fluctuantes y no se produce oportunamente la comu-

nicación de estos cambios, y por lo tanto con este criterio económico existe la posibilidad de encontrar beneficiarios «falsos positivos».

Por otro lado, la selección por criterios biológicos se sustenta en una base curativa antes que preventiva, pues la base biológica casi siempre está definida por el daño ya producido: desnutrido, talla baja, bajo peso, etc.

En algunos lugares se ha realizado la selección de beneficiarios considerando criterios geográficos. Esta estrategia al ser universal en su concepción es útil para zonas de gran privación social. Sin embargo, sólo es válida cuando hay grandes desequilibrios territoriales, porque al no ser así, también es esperable la presencia de falsos positivos. La combinación de variables biológicas y económicas de mayor estabilidad han permitido construir índices basados en informaciones relacionados con la escolaridad de los padres, déficit de crecimiento y opinión del profesor. Debe mencionarse que al utilizar diferentes variables de un universo poblacional implica tener un eficiente sistema de información.

A continuación se indica como el Estado Chileno ha realizado la selección de beneficiarios para los programas de alimentación escolar. Se debe destacar que en este país, hace varios años se utilizan un conjunto similar de variables, pero la ponderación de ellas a través de los años, ha cambiado (10).

El caso chileno puede constituir un buen ejemplo, aunque debe tenerse en cuenta la elevada proporción de población urbana existente, la amplia cobertura de programas sociales, un nivel de escolaridad aceptable y que los indicadores relacionados con calidad de la vivienda son razonables y relativamente homogéneos.

Debe aclararse que los mecanismos de selección de este país están destinados a establecer escuelas beneficiarias y el número de raciones que ellas deben recibir. Las variables que se emplean son las siguientes:

- Prevalencia de déficit de talla/edad, como indicador que resumiría la historia nutricional del niño.
- Escolaridad de la madre, referido al número de años que ella ha cursado. Este sería un índice cualitativo de la situación del hogar, ya que reflejaría la posibilidad de tener acceso a estímulos intelectuales y sociales. Se debe mencionar que en muchos países el analfabetismo o la escolaridad baja se ha asociado con desnutrición y calidad de cuidados del niño.
- Criterio del Profesor: Esta opinión es particularmente valiosa porque señalaría las reales necesidades de los alumnos para recibir alimentación escolar, si bien puede considerarse una opinión subjetiva, tiene el mérito de obtener una idea global de las necesidades del niño y su familia, tales como características socioeconómicas, situación intrafamiliar, además de conocer antecedentes sobre la distancia que el niño que recorrer para llegar a la escuela.

d. Otras dos tipos de variables han sido utilizadas. Las dirigidas a conocer la repetición escolar y el retraso académico.

Algunas alternativas de ponderación para el índice de selección han sido:

a. Alternativa A	b. Alternativa B
- Escolaridad 23,4%	- Escolaridad 34,3%
- Retraso académico 22,6%	- Retraso Académico 15%
- % de déficit de talla 19,2%	- % de déficit de talla 24,1%
- Criterio del profesor 19,0%	- Criterio del profesor 26,6%
- Repetición Escolar 15,9%	

Otro ejemplo interesante de mencionar son los criterios de focalización que ha empleado Costa Rica para sus programas de Comedores Escolares (11). Este país, también presenta una buena cobertura de los programas sociales, aunque con una mayor población en zonas rurales.

Esta selección se basó en un estudio realizado por el Ministerio de Planificación de ese país, que elaboró un índice que permitió calificar a cada uno de los 420 distritos administrativos del país. Este se construyó en base a ocho factores relacionados con desarrollo socioeconómico: % de analfabetismo, % población con nivel primario o menos, % de niños con déficit de talla/edad, % de vivienda sin electricidad, % vivienda sin agua intradomiciliaria y % de vivienda en mal estado. Con estas variables se clasificaron los distritos en tres categorías «favorables» «intermedios» y «desfavorables». Esto permitió establecer establecimientos educacionales con diferentes prioridades, siendo la más alta las escuelas localizadas en distritos pobres, que están a cargo de un solo maestro y con menos de 100 alumnos.

En un trabajo reciente realizado en Africa se mencionan un interesante criterio para la identificación de familias nutricionalmente en riesgo (12). Este se basó en variables que miden inestabilidad familiar o de emergencia social; como desempleo, invalidez o incapacidad temporal de trabajar. Aunque la utilización exclusiva de indicadores antropométricos para seleccionar beneficiarios, presenta limitaciones al reflejar básicamente el daño ya producido. Sin embargo, es recomendable la incorporación de este tipo de variable como parte de un criterio integral de identificación.

Los menores con déficit moderado o severo de peso y talla para la edad y con mayor razón los que presentan déficit de peso para talla, deberían ser seleccionados en cualquiera alternativa contemplada. En algunos lugares empleando información antropométrica se han realizado clasificaciones para establecer distintos grados de beneficios de acuerdo al daño constatado. (13)

En resumen, con respecto a los beneficiarios todo indica que la universalización y la selección exclusivamente por indicadores biológicos está superada y debe intentarse una

basada en criterios que combine elementos socioeconómicos, biológicos y/o geográficos.

- Beneficios:** Para analizar los beneficios de un programa de alimentación escolar hay que considerar el tipo de alimento que se entrega, el aporte de nutrientes, la oportunidad que éstos se van a otorgar y la forma de entregarlos. Prácticamente todos los programas existentes en América Latina, entregan gratuitamente algún tipo de alimentación diaria (desayuno, almuerzo, merienda o simplemente un vaso de leche) a través del año escolar que varía según los países entre 150 a 220 días.

En algunos países todavía los alimentos son donados por agencias internacionales, aunque progresivamente se han estado ocupando alimentos provenientes de la producción local o comprados por los propios gobiernos en el exterior. El aporte nutricional varía de un país a otro y va desde 140 calorías en una merienda que se entrega en Paraguay hasta un poco más de 1000 calorías en los patrocinados por el Programa Mundial de Alimentos (14). Esta variación se debe al tipo de alimentos utilizados, observándose la entrega de un vaso de leche, un pedazo de pan, un simple refrigerio, desayuno y/o almuerzo completo. En el **Cuadro 1** se muestra el tipo y cantidad de alimentos distribuidos en los programas de alimentación escolar en varios países de América Latina, basados en una revisión realizada por el Banco Mundial al inicio de la década de los 90.

Como puede observarse en el **cuadro** anteriormente mencionado, la mayoría de los programas cubren al menos un tercio de las necesidades nutricionales, que equivale a 700 calorías y 20 gramos de proteína para los escolares que ingresan a la enseñanza básica.

El servicio de desayuno u once considera una porción líquida que puede ser leche o un sustituto lácteo, además de una porción sólida que puede ser pan con agregados. El almuerzo considera como preparaciones guiso y postre en los que se utilizan carne, huevo, leguminosas, cereales, frutas y verduras.

- Operación de los programas:** En el pasado, esta responsabilidad le correspondió al Estado asumiendo la función del manejo integral del programa, que incluía comprar, preparar y entregar los alimentos a los beneficiarios y en algunas oportunidades, incluso producirlos.

Con la adopción de la estrategia de incorporación progresiva del esfuerzo privado en la ejecución de programas sociales se ha dejado al Estado la acción de vigilancia y supervisión.

En las evaluaciones realizadas se ha indicado que el esfuerzo privado ha demostrado ser eficiente, aunque se han constatado anomalías en la calidad del servicio otorgado y por otro lado, el Estado ha cumplido con algunas dificultades la función encomendada, producto de las limitaciones del aparato público. Algunos ejemplos de estos problemas han sido el incumplimiento y los cambios de los menús establecidos para los almuerzos escolares y

falta de vigilancia por parte del Estado.

En los lugares que la empresa privado ha sido ejecutor de programas se ha utilizado el sistema de la concesión. Para este efecto se licitan regularmente, mediante propuestas públicas la adjudicación del manejo en una determinada unidad territorial regional y para un número de beneficiario especificado. Las empresas concesionarias interesadas en participar en el llamado de la propuesta, deben presentar antecedentes respecto a ofertas económicas, consideraciones técnico nutricionales, antecedentes legales y financieros (15).

En los países en que se ha utilizado este sistema de concesiones, al Estado le ha correspondido el control y la vigilancia de las empresas con la finalidad que ellas cumplan con las especificaciones y requisitos exigidos en las bases de la propuesta.

El sistema de control está dirigido a evaluar:

- Exigencias nutricionales establecidas
- Aceptabilidad por parte de los escolares
- Infraestructura que reúna las condiciones para ofrecer un servicio óptimo
- Calidad de los alimentos ofertados.

Los controles son efectuados directamente por personal supervisor de la institución responsables del Estado, profesores encargados, laboratorios de control de calidad de los alimentos, etc.

6. Lecciones aprendidas: Son muchas las experiencias que se podrían mencionar, aquí se presentan las más pertinentes y útiles en relación al manejo del programa, a la coordinación a nivel local, al proceso de evaluación y contribución de las Organizaciones Internacionales.

La experiencia ha indicado que la empresa privada ha sido eficiente en el manejo de la entrega de los alimentos y lo ha conseguido a un costo relativamente bajo. Las principales dificultades están relacionadas con la insolvencia que presentan algunas empresas, (por haber estimado incorrectamente sus costos), la calidad del servicio proporcionado e irregularidades menores en la oportunidad de entrega de los alimentos.

Para evitar los errores de cálculo, en algunos lugares se indica un precio mínimo (techo menor de costos) al cual las empresas pueden concurrir y éste se establece por la entidad responsable de la formulación de la propuesta, considerando costos y un porcentaje razonable de ganancias.

Con el fin de que no ocurran fallas en la entrega del servicio se han aplicado dos tipos de medidas:

- Involucrar a la comunidad en la vigilancia del servicio entregado (Asociaciones de Centros de Padres u otras Organizaciones)
- Sancionar a las empresas que no han cumplido con sus compromisos, a través de multas que son proporcionales al costo que se le debe cancelar por las raciones programadas.

Al Estado le ha correspondido fijar y preparar las bases de las propuestas, vigilancia y seguimiento de las acciones. Para esto se le debe entregar herramientas y los recursos necesarios, esto siempre ha ocurrido. En algunas ocasiones el excesivo control del gasto público ha llevado a una disminución de recursos y esto ha derivado en una inadecuado control y supervisión.

En algún lugar del aparato del Estado debe recaer la responsabilidad de manejar este tipo de programa. Con la lógica de la organización gubernamental en América Latina lo más razonable sería que tal lugar correspondiera al Ministerio de Educación, aunque puede también estar localizado en otro lugar de acuerdo al énfasis de las políticas sociales en el aparato gubernamental.

La gran falencia institucional detectada está relacionada con la falta de coordinación entre los diferentes programas sociales y nutricionales. A esto se le ha llamado falta de encadenamiento de las intervenciones, la cual a traído como consecuencia que niños de alto riesgo beneficiarios de programas, antes del ingreso a la escuela, no son contemplados en los programas escolares debido a una descoordinación programática e institucional. La falta de coordinación de los programas se debe a que los diferentes responsables están localizados en distintos lugares, sin ninguna articulación interinstitucional.

Por otro lado, al incorporarse el esfuerzo privado a estos programas en sus diferentes modalidades; ya sea a través de una empresa privada, comunidad organizada u Organización No Gubernamental en muchas oportunidades actúa en forma independiente, compitiendo con el esfuerzo público y desafortunadamente, no contribuyendo a potenciar las acciones del Estado.

En algunos lugares la función de coordinación interinstitucional y de articulación de los diferentes esfuerzos la han ido asumiendo los Ministerios de Planificación: sin embargo, al no existir una entidad por sobre las otras los intentos de coordinación han sido limitados. Con la descentralización y el papel cada vez más activo del municipio como unidad de acción a nivel local, se han registrado experiencias exitosas, aunque todavía hay mucho por hacer.

Las Organizaciones no Gubernamentales han intentado colaborar con estos programas, aunque han sido más bien experiencias limitadas. En algunas ocasiones se han transformado en concesionarios, utilizando las producciones locales de alimentos y la organización de la comunidad. Estas experiencias tienen una validez teórica; sin embargo para que sean viables deben tener un número suficiente de beneficiarios y contar con un manejo profesional, lo que no siempre ha ocurrido. Por otro lado, estas iniciativas, al respetar los hábitos de la comunidad y el trabajar junto con ellas han sido bien aceptadas por la población (16).

La evaluación de intervenciones nutricionales para los escolares han sido mínimas (17). A los gobiernos no les ha

interesado conocer si ellas están cumpliendo con los objetivos propuestos y en muchas ocasiones el objetivo de los gobernantes ha sido de relaciones públicas o de simple propaganda antes de velar que las intervenciones sean efectivas y eficientes.

Sin embargo, en la actualidad el interés en mejorar la calidad de las intervenciones ha despertado preocupación por las evaluaciones y aquí lo recomendable es disponer de recursos para ello, en algunos lugares se ha señalado que este puede ser un porcentaje de alrededor de 0,5% del total del gasto en el programa (18)

Sobre la metodología de evaluación es altamente recomendable conocer periódicamente el monto del gasto público en relación variables de impacto como el rendimiento y la deserción escolar.

Finalmente, se debe mencionar que en muchos lugares las acciones de algunas agencias del Sistema de Naciones Unidas han ido asumiendo una función integradora, a través del apoyo de acciones claves que fortalezcan la coordinación y en última instancia el desarrollo local.

En el nuevo contexto de las políticas de desarrollo a las Agencias Internacionales les corresponde un papel clave en la solución de problemas puntuales y decisivos ya sea en la formulación global de las políticas sociales o en acciones que permitan un desarrollo local integral. En ese sentido es digno señalar la importante contribución para seleccionar poblaciones a riesgo, lo que ha permitido orientar políticas sociales a distintos tipos diferentes de poblaciones a riesgo (19,20) y/o la colaboración en la formación de líderes aprovechando la experiencia internacional (21).

REFERENCIAS

- UNICEF Estado Mundial de la Infancia. J&J Asociados. Barcelona, España. 1995
- Beaton C, Bengoa JM. Nutrition and Health in Perspective: An Introduction. Chapter 1 in Nutrition in Preventive Medicine. World Health Organization. Monograph Series N° 62. Geneva 1976.
- Mora J. Deficiencia de la Vitamina A y Acciones para su prevención y control en América Latina y el Caribe. Conferencia presentada en el X Congreso Latinoamericano de Nutrición, Libro de Resúmenes de Conferencia, Resumen 13 Caracas, Venezuela, 1994.
- Beguín I & Viteri F. Nutrition Rehabilitation Centres -an evaluation of their performance. JTrop Pediatric & Environmental Child Health 1973; 19:403-416.
- Berg A. El Futuro. En Malnutrición ¿Qué hacer? Enseñanzas de la Experiencia del Banco Mundial. Editorial Tecnos. Madrid 1989.
- Falcon W, Kurien Ct, Monckeberg F, Achola P, Olayde S, Rabar F & Tims W. The World Food and Hunger Problem: Changing Perspectives and Possibilities, 1974-84 in Food Policy Edited by Gittinger P, Leslie J and Hoidington C. Edi Series Economic development. The Johns Hopkins University Press. London 1987.
- Parrillon C. Nutrición y Producción Local. Le carnet de l'enfance N° 35 27-38, Julio-Septiembre 1876.
- Grosh M. From Platitudes to Practice: Targeting Social Program in Latin America. Volume I Synthesis. Human Resources Division. World Bank. Latin American and the Caribbean Technical Department. Regional Studies Programs. Washington, September 1992.
- Banco Mundial. Informe sobre el Desarrollo Mundial 1993. Invertir en Salud. Oxford University Press. New York, 1993.
- Vial I, Camhi R e Infante A. Chile: Experiencias y Dilemas de Focalización del Programa de Alimentación Escolar (PAE). Caso IV in From Platitudes to Practices: Targeting Social Programs in Latin America. Volume II. World Bank. Latin America and the Caribbean Technical Department. Regional Studies. Report N° 21 Washington, September 1992.
- Trejos JD: Costa Rica Los Comedores Escolares. Caso VI in from Platitudes to Practices: Targeting Social Programs in Latin America. Volume II. World Bank. Latin America and the Caribbean Technical Department. Regional Studies. Report N° 21 Washington, September 1992.
- Martínez C. Methodologie de Identification des Families Nutritionnellement a Risque pour la des beneficiaries des programmes d'assistance. FAO/PCT/TOG/4453. Roma, Mayo 1995.
- Kain J, Vial I, Muchnik E, Contreras A. Evaluación de la modalidad de refuerzo del programa de Alimentación Complementaria de Chile. Arch Latinoamer Nutr Diciembre 1994; Vol. 44 p242-248.
- Musgrove P. Human Resource Division. Feeding Latin America's Children. An Analytical Survey of Food Programs. World Bank. Regional Studies Program Report N° 11.
- Junta Nacional de Auxilio Escolar y Becas. Ministerio de Educación de Chile. Bases Técnicas y Operacionales de la Propuesta de 1993. Santiago, 1993.
- Yañes P. Programa de Alimentación Escolar y Desarrollo Local Evaluación de la Intervención. Tesis para optar al grado de Magister en Ciencias Médicas con Mención en Nutrición. Facultad de Medicina. Universidad de Chile. Marzo 1995.
- Organización Panamericana de la Salud. Evaluación de un Programa de Alimentación Escolar: El Caso Argentino. 137 pág. Washington 1990.
- Torche A. et all. Estudio de Evaluación Económica del Programa Nacional de Alimentación Complementaria de Chile. Informe Final Resumen Ejecutivo. Santiago Diciembre de 1995.
- UNICEF. Una propuesta de clasificación de las comunas del país según criterios biomédicos y socioeconómicos para medir la vulnerabilidad infantil. Imprenta Zenith Santiago, Noviembre 1990.
- UNICEF. Una propuesta de clasificación de las comunas del país. Según la Situación de la Infancia. Andros Ltda. Santiago, Octubre 1994.
- Amigo H. Evaluación del Proyecto piloto de Nutrición Materno Infantil en el oriente de Chiriquí. Panamá, Febrero 1995.

Recibido: 20-09-1996

Aceptado: 14-08-1997

Estado nutricional de gestantes adolescentes en São Paulo, Brasil

Elizabeth Fujimori¹, Ida María Vianna de Oliveira¹, Luz Marina Núñez de Cassana² y Sophia Cornbluth Szarfarc³

Departamento de Enfermería en Salud Colectiva y Departamento de Nutrición de la Universidad de São Paulo, Brasil

RESUMEN. El objetivo de este estudio fue determinar el estado nutricional antes y durante el embarazo, en una muestra de 155 adolescentes de condiciones socioeconómicas precarias atendidas en su prenatal en una maternidad de beneficencia de la ciudad de São Paulo, Brasil. Por el índice de Masa Corporal se verificó que 25,2% de adolescentes tenían bajo pregestacional y sólo 3,3% en el embarazo, mientras con los patrones de Siqueira et al y Rosso estos porcentajes fueron muy diferentes y mucho mayores, al igual que la proporción de sobrepeso y obesidad. Estos resultados resaltan la necesidad de revisar los patrones antropométricos que clasifiquen nutricionalmente, específicamente de a la embarazada adolescente. Palabras Clave: Embarazada adolescente, Antropometría, Evaluación nutricional, Estado nutricional.

SUMMARY. Nutritional status of adolescent pregnancy in São Paulo, Brazil. Several anthropometric patterns were used to evaluate the nutritional status of 155 pregnant teenagers of low socioeconomic status in a prenatal care unit of a beneficent hospital in São Paulo, Brazil. Using the body mass index 25,2% of them were classified as underweight before pregnancy and 3,3% during pregnancy. The Siqueira's et al curve and the Rosso's normogram showed higher percentages of underweight, as well as of overweight and obesity. The results indicated the necessity to review the anthropometrics patterns that classify specifically the nutritional status of pregnant adolescents.

Key words: Adolescent pregnancy, Anthropometric Evaluation, Nutrition status

INTRODUCCION

El embarazo en la adolescencia constituye un período de especial interés para los profesionales de salud, por su vulnerabilidad biológica y social. Adicionalmente a las circunstancias sociales y económicas desfavorables que rodean la gestación en la adolescencia, el embarazo en esa fase de la vida incluye riesgos de tipo nutricional, pues el crecimiento materno impone necesidades que se suman a las del embarazo (1). Entre los efectos adversos más frecuentemente citados de la gravidez en la adolescencia, se incluyen la prematuridad y el bajo peso al nacer (2,3,4) los que permanecen aún siendo controladas las variables asistencia prenatal y nivel educacional (5). Así, el estado nutricional de la adolescente grávida, articulado a condiciones de vida precaria, se presenta como determinante fundamental de la calidad de la gravidez y del resultado de la misma (6,7)

Al respecto también se ha relatado que las gestantes adolescentes tienen tendencia a una menor estatura y peso

corporal, que las mujeres adultas (8), hecho que se correlaciona fuertemente con el menor tamaño del recién nacido (9). Por lo tanto los cambios que se logre en el estado nutricional de la madre adolescente influirán directamente tanto en la madre como en el recién nacido (10).

Es claro que la evaluación antropométrica ayuda a pronosticar el bajo peso al nacer, identificando a las mujeres con mayor probabilidad de riesgo (7,10,11,12,13). Sin embargo, la evaluación nutricional no se evidencia como una actividad importante en la asistencia prenatal de adolescentes en nuestro país.

Considerando que el peso corporal y la estatura constituyen variables imprescindibles en esa evaluación, la estatura por indicar los antecedentes nutricionales y socioambientales y el peso por indicar el grado de adecuación alimentaria y durante la gravidez, se pretendió en el presente estudio determinar el estado nutricional de gestantes adolescentes, antes y durante el embarazo.

MATERIAL Y METODO

Sujetos y sus características generales: El presente estudio de naturaleza transversal fue desarrollado en una maternidad de beneficencia de la ciudad de São Paulo, Brasil, de julio a octubre de 1993. La muestra la conformaron 155 adolescentes de 13 a 19 años de edad (14) que aceptaron participar del estudio, y tuvo como único criterio de inclusión,

1. Dpto. de Enfermería en Salud Colectiva, Escuela de Enfermería, Universidad de São Paulo.
2. Facultad de Salud Pública, Universidad de São Paulo, Brasil. Profesora de la Universidad Nacional de Cajamarca, Perú.
3. Departamento de Nutrición, Facultad de Salud Pública, Universidad de São Paulo, Brasil.

reunir un número mínimo de adolescentes por trimestre gestacional. Las adolescentes fueron divididas en dos grupos etáreos (≤ 16 y > 16 años), según riesgo nutricional propuesto por la Asociación Americana de Dietética (6) (Tabla 1).

La Tabla 2 muestra características generales de las embarazadas estudiadas. Resaltándose que más de un tercio de las adolescentes provenían del Nor-Este del Brasil, región más carente del país (15), y casi la mitad pertenecían a familias con ingreso per cápita inferior a un salario mínimo vital (US \$88,20), lo que en São Paulo constituye un nivel crítico para una alimentación adecuada (16).

TABLA 1
Adolescentes embarazadas según trimestre gestacional y grupo etáreo

Trimestre gestacional (semanas)	Grupo etáreo	
	≤ 16 n° (%)	> 16 n° (%)
1er (<14)	11(24,4)	21(19,1)
2do (14-27)	19(42,2)	43(39,1)
3er (>27)	15(33,3)	46(41,8)

TABLA 2
Características generales de las adolescentes embarazadas

Características	$X \pm S$
Edad (años)	17,2 \pm 1,44
Escolaridad (años)	5,6 \pm 2,06
Ingreso per cápita (SMV)	1,4 \pm 1,81
Edad menarquía (años)	12,6 \pm 1,51
Edad en la 1a relación sexual (años)	15,1 \pm 1,90
Semana gestacional (en la entrevista)	23,6 \pm 9,72

SMV: Salario mínimo vital (US \$88,20)

Datos antropométricos: Las medidas antropométricas (estatura y peso en la entrevista) fueron tomadas sin calzados y con ropa leve en balanza antropométrica calibrada. La estatura fue verificada para 98,1% de adolescentes, habiendo tres pérdidas que ocurrieron por imposibilidad de su verificación en el momento de la entrevista, asociada al no retorno de la adolescente en el período de la recolección de datos. El peso pregestacional fue obtenido para 93,6% y corresponde al peso que la adolescente refería tener antes del embarazo. Usamos este dato para ubicar el estado nutricional pre-gestacional,

considerando su validez a partir del estudio de Stevens-Simons et al (17) quienes demostraron haber correlación fuerte y estadísticamente significativa entre el peso pregestacional relatado y el peso documentado para adolescentes con peso bajo o ideal, y una débil correlación para el grupo de adolescentes con sobrepeso.

Evaluación nutricional: El estado nutricional de las adolescentes fue determinado antes de la gestación (pregestacional) y durante la gestación (gestacional). El estado nutricional pregestacional se evaluó usando el índice de masa corporal (18) (IMC). El estado nutricional gestacional también fue evaluado por el IMC y por los patrones propuestos por Siqueira et al (19) y Rosso (20), este último validado por el Ministerio de Salud para el país (21).

Definiciones: El índice de masa corporal fue calculado a través de la relación peso (kg)/talla² (m) usando para ello, el peso pregestacional y el peso en el momento de la entrevista. Para la clasificación del estado nutricional, tanto pregestacional como durante la gestación, se utilizó los puntos de corte propuestos por Institute of Medicine (18) para gestantes adultas, que ubica el estado nutricional en cuatro categorías: bajo peso (IMC < 19,8), peso normal (19,8 \geq IMC < 26,0), sobrepeso (26,0 \geq IMC < 29) y obeso (IMC \geq 29).

Las curvas propuestas por Siqueira et al (19) para diferentes grupos de talla materna, para cada edad gestacional, clasificó a las embarazadas en desnutridas eutróficas y obesas, según sea la adecuación del peso corporal.

La gráfica de incremento de peso para la embarazada de Rosso (20), padronizada para ser utilizada en el país (21), que utiliza la adecuación peso/talla de la mujer en cada semana gestacional, clasificó el estado nutricional en bajo peso, normal y sobrepeso. Fueron ubicadas por este patrón 82,2% de la población, excluyendo adolescentes con edad gestacional <10 o >42 semanas, talla <140 cm o >175 cm y adecuación >135%. Para la interpretación de la gráfica, se siguió la recomendación de Rosso (20) para adolescentes que han concebido dentro de un período de 4 años después de la menarquía, incrementando 1 kg a su peso gestacional.

Análisis estadísticos: Los datos fueron pre-codificados y almacenados en un único archivo en el programa de Base III plus. Verificada la consistencia de las informaciones, estas fueron analizadas y presentadas en porcentajes, promedios (x) y desviación standard(s), utilizándose para esto el software Epi-info (22). Para comparar las variables cuantitativas se utilizó la prueba «t-student» y en los casos pertinentes se empleo la chi cuadrado (x^2)²³. Para todas las pruebas estadísticas usadas, el nivel de significancia fue siempre alfa igual o inferior a 5%.

RESULTADOS

La Tabla 3 se presentan las características antropométricas y el estado nutricional pregestacional. La estatura de las gestantes estudiadas varió de 140,5 a 176,0 cm y midieron menos de 150,0 cm el 12,5% de ellas, pero los valores promedios no variaron significativamente entre los grupos etáreos. En peso pregestacional se observó el mínimo de 32,0 y máximo de 90,0 kg. con promedio de 53,9 kg que también no mostró diferencia entre los grupos, sin embargo 58,6% presentaron peso pregravídico inferior a 55,0 kg, casi mitad de ellas con peso inferior a 50,0 kg. En lo que respecta al estado nutricional pregestacional verificado según el IMC, se observó que la cuarta parte de las embarazadas tenían bajo peso, mientras que el sobrepeso sumado a la obesidad se observó en una pequeña proporción.

TABLA 3
Características antropométricas y estado nutricional pregestacional de las adolescentes, según grupo etáreo

Características ¹	Grupo etáreo (años)		Total	P
	≤16	>16		
Estatura (cm): n(%)				
<150,0	3(6,7)	16(15,0)	19(12,5)	—
150,0 160,0	30(66,6)	49(45,8)	79(52,0)	
≥ 160,0	12(26,7)	42(39,2)	54(35,5)	
$x \pm s$ (n)	157,0 ± 5,15 (45)	157,5 ± 6,73 (107)	157,4 ± 6,29 (152)	0,76 ³
Peso pregestacional (kg): n(%)				
<50,0	10(24,4)	30(28,8)	40(27,6)	0,53 ²
50,0 55,0	13(31,7)	32(30,8)	45(31,0)	
55,0 60,0	12(29,3)	20(19,2)	32(22,1)	
≥ 60,0	6(14,6)	22(21,2)	28(19,3)	
$x \pm s$ (n)	53,9 ± 6,89 (41)	53,8 ± 8,29 (104)	53,9 ± 7,90 (145)	0,95 ³
Estado nutricional pregestacional:				
IMC n (%)				
Bajo peso (<19,8)	11(26,8)	29(24,5)	36(25,2)	—
Normal (19,8 a 25,9)	26(63,4)	71(69,6)	97(67,8)	
Sobrepeso (26,0 a 28,9)	4(9,8)	2(2,0)	6(4,2)	
Obesidad (≥29,0)	—	4(3,9)	4(2,8)	
$x \pm s$ (n)	21,9 ± 2,7 (41)	21,7 ± 3,1 (107)	21,8 ± 3,0 (143)	0,40 ³

1. No fueron obtenidas informaciones para el total de las mujeres

2. Chi cuadrado

3. t-student

El estado nutricional gestacional (en el momento de la entrevista), según grupo etáreo y trimestre gestacional se muestran en la Tabla 4. El bajo peso (categoría desnutrida), según los tres patrones utilizados varió de 3,3 a 48,9%. Por etáreo se nota mayor proporción de bajo peso para el grupo

más joven con el IMC y el patrón de Siqueira et al (19), pero sin diferencia significativa entre los grupos de edad. La proporción de gestantes eutróficas fue de aproximadamente 70% por el IMC y el patrón de Siqueira et al (19), mientras que por Rosso (21) ese porcentaje fue de apenas 45,0%. El sobrepeso sumado a la obesidad varió de 6,1 a 25,6% según sea el patrón utilizado. Pese no haber diferencia significativa entre los grupos de edad, el porcentaje fue mayor para el grupo de embarazadas más jóvenes con los patrones de Siqueira et al (19) y Rosso (21), y menor según el IMC.

El estado nutricional según trimestre gestacional muestran proporciones semejantes de bajo peso en el primer trimestre para los patrones de IMC y Siqueira et al (19), siendo menor para Rosso (21). Sin embargo, se observa que la categoría bajo peso presenta una tendencia a aumentar en el segundo y tercer trimestre con los patrones de Siqueira et al (19) y Rosso (21) (56%), y muy diferentes en el segundo y tercer trimestre, no obstante los valores de Rosso (21) disminuyen considerablemente (54,9% y 29,4% respectivamente), mientras que con IMC y Siqueira et al (19) y Rosso (21), mostrando menor porcentaje en el segundo trimestre. Sin embargo, con el IMC, las proporciones se mostraron elevadas en todos los trimestres gestacionales, llegando a estimar 38,8% de embarazadas con sobrepeso sumado a la obesidad en el tercer trimestre. Comparando las categorías normal con sobrepeso más obesidad en el caso de IMC y normal con obesidad, se observó diferencia significativa entre los trimestres gestacionales para IMC y el patrón de Siqueira et al (19).

DISCUSION

Según Tanner (24), las adolescentes alcanzan la madurez fisiológica aproximadamente cuatro años después de la menarquia, y la Asociación Americana de Dietética (6) sugiere que las adolescentes grávidas con menos de 4 años postmenárquicos sean consideradas de alto riesgo nutricional, ya que ellas requieren de energía y nutrientes para su propio crecimiento y desarrollo y para cubrir la demanda gestacional (1). En el presente estudio, considerando que la edad promedio de menarquía fue de 12,6 años, para caracterizar a las adolescentes en su estado nutricional estas fueron divididas en dos grupos etáreos (≤16 y >16 años), así como por trimestre gestacional.

Mientras se conoce que el riesgo de problemas perinatales aumenta considerablemente cuando la estatura de la madre es inferior a 150,0 cm. en el presente estudio se encontró una pequeña proporción de adolescentes con esa estatura (12,5%), comparada con lo verificado por Arcos et al (13) en embarazadas adolescentes chilenas (35,9%).

TABLA 4
Estado nutricional gestacional, según grupo etáreo y trimestre

Características ¹	Grupo etáreo (años)		p2	Trimestre gestacional			p3	TOTAL
	≤16	>16		1er	2do	3er		
IMC								
Bajo peso (<19,8)	2(4,4)	3(2,8)	—	4(16,0)	1(1,4)	-	0,03	5(3,3)
Normal (19,8 a 25,9)	32(71,1)	76(71,0)		16(64,0)	59(80,8)	33(61,1)		108(71,1)
Sobrepeso (26,0 a 28,9)	9(20,0)	21(19,6)		4(16,0)	10(13,7)	16(29,6)		30(19,7)
Obesidad (≥29,0)	2(4,4)	7(6,5)		1(4,0)	3(4,1)	5(9,2)		9(5,0)
SIQUEIRA et al								
Desnutrida	9(20,0)	13(12,1)	0,35	4(16,0)	6(8,2)	12(22,2)	0,01	22(14,5)
Normal	30(66,7)	83(77,6)		14(56,0)	62(84,9)	37(68,5)		113(74,3)
Obesa	6(13,3)	11(10,3)		7(28,0)	5(6,8)	5(9,2)		17(11,2)
ROSSO								
Bajo peso	18(48,6)	46(48,9)	0,35	1(11,1)	30(42,2)	33(64,7)	—	64(48,9)
Normal	15(40,6)	44(46,8)		5(55,6)	39(54,9)	15(29,4)		59(45,0)
Sobrepeso	4(19,8)	4(4,3)		3(33,3)	2(2,8)	3(5,9)		8(6,1)

1. No fueron obtenidas informaciones para el total de las mujeres
2. Chi cuadrado
3. Chi cuadrado entre normal y sobrepeso más obesidad u obesidad

El promedio de talla verificado (157,4 cm) fue semejante al promedio de la mujer brasilera de 18 años de edad (25) o que corresponde al percentil 35 del patrón de la National Center of Health Statistics (26), recomendado por la OMS. Una de las hipótesis que existe para explicar el mal desempeño obstétrico de gestantes adolescentes es el hecho de que su organismo aún está en fase de crecimiento y desarrollo, y no apto para el embarazo (27). Siendo así, podría esperarse una estatura inferior en el grupo más joven, hecho que no fue verificado en este estudio, al igual que Pinto e Silva (28) cuando comparó una población de gestantes adolescentes con adultas, observando estatura media de 154,0 cm para ambos grupos.

El peso pregestacional es una variable que está directamente relacionada con la nutrición materna y con la incidencia de bajo peso al nacer (5,29), razón por la cual se recomienda que toda mujer para engravidar debe también estar preparada nutricionalmente. Zuckerman et al (30) fundamentaron la validez de la variable peso pregestacional en gestantes adolescentes como determinante del peso al nacer. En el presente estudio es preocupante la gran proporción (55,9%) de adolescentes con peso inferior al percentil 50 de mujeres adolescentes de 18 años (53,2 kg), según patrón nacional (31)

El promedio de IMC verificado fue menor a lo encontrado por Arcos et al (13) y Schollet et al (27) en jóvenes embarazadas, pero semejante a la media para adolescentes brasileñas de 17 años no grávidas (28). No obstante, el estado nutricional pregestacional según IMC, en este estudio muestra dos tercios de las embarazadas como eutróficas. Arcos et al (13), utilizando punto de corte diferente (19,2 a 25,6) en gestantes adoles-

centes chilenas, verificó mayor proporción de gestantes con peso ideal (86,5%). Sichieri et al (32), analizando datos nacionales, sugieren el uso de los percentiles 10 y 90 del IMC encontrado entre los adolescentes brasileiros de 10 a 17 años, como puntos de corte para definir la categoría de normalidad (15,0 a 21,0 para niñas de 10 años hasta un 18,0 a 25,0 para mujeres de 17 años), hecho que aumentaría la proporción de adolescentes con peso pregestacional normal.

Considerando que en la actualidad no se cuenta con patrones que evalúen el estado nutricional de embarazada adolescente, se utilizaron para el presente estudio los tres patrones para evaluación nutricional de embarazadas adultas, más comunes en nuestro medio, los que mostraron diferencias muy grandes entre ellos.

Según IMC, la proporción de embarazadas con bajo peso en el momento de la entrevista, podría estar subestimado, cuando se compara con los otros dos patrones en estudio, tanto por grupo etáreo o trimestre gestacional. Arcos et al (13), en población específica, utilizando el IMC verificó cifras mayores (26,3%) de bajo peso tanto al inicio como en el final de la gestación. En nuestro estudio, utilizándose el patrón propuesto por Siqueira et al (19), la proporción de bajo peso fueron mayores (14,5%) y menor a los relatados por Tanaka (33) (18,7%), Sinisterra et al (34) (17,2%) y Moura et al (35) (23%). Con el patrón de Rosso (21), siguiendo las recomendaciones del autor (20) para embarazadas adolescentes, casi la mitad de las jóvenes estudiadas fueron consideradas desnutridas. Batista F. et al (36) en nuestro medio, también encontró cifra elevada de gestantes con bajo peso (57,8%), mientras Soares

et al (37) verificó sólo 25,7%. Estudios realizados en otros países latinoamericanos, señalan de igual manera cifras muy diversas, variando de 25,9 a 44,5% (38,39,40)

En relación al sobrepeso y obesidad, también se observó diferencias muy marcadas según sea el patrón usado. Una gran proporción de adolescentes fueron ubicadas en esta categoría con el patrón IMC (25,6%) cifra que baja a más de la mitad con el patrón de Siqueira et al (19) (11,2%) y para la cuarta parte con la gráfica de Rosso (21) (6,1%). Arcos et al (13) encontró proporción similar de sobrepeso y obesidad en embarazadas adolescentes (28%), usando el IMC. Sin embargo, utilizando el patrón de Siqueira et al(19), Tanaka (33), Sinisterra (34) y Moura et al (35) observaron proporciones algo mayores de mujeres obesas al fina de la gestación (de 17% a 19%), comparadas con las verificadas en el presente estudio. En tanto, Simonnetti et al (39), Sinisterra et al (4), Soares et al (37) y Núñez (38), usando la gráfica de Rosso (20) encontraron cifras muy elevadas (variando de 22,9 a 36,8%) en relación a los valores encontrados en el presente estudio.

No se encontró estudios realizados en adolescentes embarazadas, que ubiquen el estado nutricional por grupo etéreo o trimestre gestacional. Sin embargo, el presente estudio señala que no hay diferencia entre los grupos etéreos y en relación al trimestre gestacional, se nota proporciones muy variadas entre las diferentes categorías nutricionales y entre los trimestres. Así, casi dos tercios de las adolescentes en el tercer trimestre fueron clasificadas como desnutridas por Rosso (21), mientras que ninguna fue ubicada en esta categoría por el IMC. Esa disparidad en la clasificación del estado nutricional de las embarazadas, según los diferentes patrones utilizados demuestra la imperiosa necesidad de buscar criterios adecuados para una eficaz ubicación del estado nutricional de gestantes adolescentes, usando para ello medidas antropométricas, de fácil aplicación en servicios de salud, que permitan por lo menos rastrear el bajo peso y el sobrepeso, ya que la condición nutricional materna previa y durante la gestación es considerada un importante regulador de la salud materno-fetal.

Así, los autores sugieren la realización de estudios prospectivos para determinar el mejor evaluador del estado nutricional de embarazadas adolescentes. También, estando implementándose el Programa de Atención Integral a la Salud de los Adolescentes en el país, es oportuno integrar en él, un monitoreo nutricional, imprescindible para el mantenimiento de la salud de la adolescente, especialmente si tuviera que enfrentar un proceso gestacional en esa fase de la vida.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Consejo Nacional de Desarrollo Científico y Tecnológico - CNPq (N° 400788/91-8) por el financiamiento concedido y la colaboración técnica de Alessandra Rocha Lima, Bolsista de Iniciación Científica del Programa Institucional de Bolsas de Iniciación Científica del Consejo Nacional de Desarrollo Científico y Tecnológico -

PIBIC/CNPq y de Valdênia Dias de Castro, Bolsista de iniciación Científica de la Fundación de Amparo a la Pesquisa del Estado de São Paulo - FAPESP (n° 95/0819-0).

REFERENCIAS

- Scholl TO & Hediger MLA. Review of the epidemiology of nutrition and adolescent pregnancy: maternal growth during pregnancy and its effect on the fetus. *J Am Coll Nutr* 1993; 12:101-7.
- McAnamey ER. Commentary on teenage pregnancy: comparison with two groups of older pregnant women. *J Adolesc Health Care* 1991; 12:82-3.
- Organización Panamericana de la Salud. Fecundidad en la adolescencia: causas, riesgos y opciones. Washington, OPS. (Cuadernos Técnicos N° 12), 1988.
- Pinto e Silva JL. Aspectos biológicos e sociais da gravidez na adolescência. *J Bras Ginecol* 1984; 94:227-32.
- Jaiek L & Lederman SA. The relationship between maternal weight for height and term birth weight in teens and adult women. *J Adolesc Health Care* 1988; 10:16-22.
- Worthington-Roberts B & Endres J. Nutrition management of adolescent pregnancy: technical support paper. *J Am Diet Assoc* 1988; 89:105-9.
- Frisancho AR, Matos J, Flegel P. Maternal nutritional status and adolescent pregnancy outcome. *Am J Clin Nutr* 38: 1983; 739-46.
- Gam SM & Petzold AS. Characteristics of the mother and child in teenage pregnancy. *Am J Dis Child* 1983; 137:365-8.
- Gam SM & LaVelle M. Reproductive histories of low weight girls and women. *Am J Clin Nutr* 1983; 37:862-6.
- Maso MJ, Gong EJ, Jacobson MS, Bross DS, Heald FP. Anthropometric predictors of low birth weight outcome in teenage pregnancy. *J Adolesc Health Care* 1988;9:188-193.
- Stevens-Simon C & McAnamey ER. Determinants of weight gain in pregnant adolescents. *J Am Diet Assoc.* 1992; 92:1348-51.
- Johnston C & Kandell L. Pregnancy weight and rate of maternal weight gain in adolescent and young adults. *J Am Diet Assoc* 1992; 92:1515-7.
- Arcos E, Olivo A, Romero J, Saldivia J, Cortez J, Carreta L. Relación entre el estado nutricional de madres adolescentes y el desarrollo neonatal. *Bol Oficina Sanit Panam* 1995; 118:488-98.
- Organización Mundial de la Salud. Problemas de salud de la adolescencia. Ginebra. OMS (Serie de Informes Técnicos N° 308) 1965.
- Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Crianças e adolescentes: indicadores sociais. Rio de Janeiro: IBGE. 1992.
- Barelli W, Alves EG, De Martini VGL. Perfil do cosumo alimentar da classe trabalhadora. *Saúde Deb* 1988; 23:26-32.
- Stevens-Simon C, Roghmann KJ, McAnamey ER. Relationship of self-reported prepregnant weight and weight gain during pregnancy to maternal body habitus and age. *J Am Diet Assoc* 1992; 92:85-7.
- Institute of Medicine. National Academy of Sciences. Food and Nutritional Board. Nutritional during pregnancy. Part I: weight gain. Part II: Nutrition supplements. Washington DC: National

- Academy Press 1990.
19. Siqueira AAF, Ciari Jr C, Almeida PAM, Tanaka ACd'A, Montelone PPR, Arruda JJG et al. Influência da altura e ganho de peso maternos e da idade gestacional sobre o peso do recém-nascido: estudo de 3 grupos de gestantes normais. *Rev Saúde Publ* 1975; 9:331-42.
 20. Rosso P. A new chart to monitor gain during pregnancy. *Am J Clin Nutr* 1985; 41:52-6.
 21. Tadei JA, Jacomo AAJ, Albuquerque ZP, Aquino MA, Mathias SP, Torres IH et al. O percentual do peso para altura da gestante no prognóstico do baixo peso ao nascer: estudio multicêntrico. *Rev Bras Ginecol Obstet* 1991; 2:78-82.
 22. Dean A, Dean J, Burton A, Diker R Epi-info. Version 5: A word processing and statistics program for epidemiology on micro-computers. Atlanta Center for Disease Control 1990.
 23. Berquó ES, Souza JMP, Gitlielb SLD. Bioestatística. Análise descritiva de uma distribuição de frequências a duas variáveis qualitativas. São Paulo EPU, 1981
 24. Tanner JM. Growth and maturation during adolescence. *Nutr Rev* 1981; 39:43-55.
 25. Coitinho DC, Leão MM, Recine E, Sichieri R. Condições nutricionais da população brasileira: adultos e idosos. Brasília: Ministério da Saúde, Instituto Nacional de Alimentação e Nutrição. 1991.
 26. Organización Mundial de la Salud. Medición del cambio del estado de salud. Ginebra, OMS. 1983.
 27. Scholl TO, Hediger ML, Schall JI, Khoo C, Fisher RL. Maternal growth during pregnancy and the competition for nutrients. *Am J Clin Nutr* 1994; 60:183-8.
 28. Pinto e Silva JL. Aspectos biológicos e sociais da gravidez na adolescência. *J Bras Ginecol* 1984; 94:227-32.
 29. Barros FC, Victora CG, Vaughan JP, Estanislau HJ. Bajo peso al nacer en el Municipio de Pelotas, Brasil: factores de riesgo. *Bol Oficina Sanit Panam* 1987; 120:541-53.
 30. Zuckerman B, Alpert JJ, Dooling E, Hingston R, Kayne H, Morelock S, Oppenheimer E. Neonatal outcome: is adolescent pregnancy a risk factor? *Pediatrics* 1983; 71:89-93.
 31. Marcondes E. Normas para o diagnóstico e a classificação do distúrbios do crescimento e da nutrição: última versão. *Pediatria, São Paulo* 1982; 4:307-26.
 32. Sichieri R & Allam VLC. Avaliação do estado nutricional de adolescentes brasileiros através do índice de massa corporal. *J Pediatr* 1996; 72:80-4.
 33. Tanaka ACd'A. Saúde materna e saúde perinatal (Tese). São Paulo: Universidade de São Paulo, 1986.
 34. Sinisterra OT, Szarfarc SC, Benicioi Mhd'A. Anemia e desnutrição maternas e sua relação com o peso ao nascer. *Rev Saúde Publ*; 1991; 25:193-7.
 35. Moura EC, Rossi AV, Sanches AL, Vendramini CM, Françoço TA. Perfil nutricional de gestantes atendidas no centro de saúde escola Jardim Novo Campo Elíseo da PUCAMP. *Rev Nutr PUCAMP, Campinas*. 1990; 3:113-26.
 36. Batista Fº M, Barros LF, Nacul LC. O perímetro braquial como método de avaliação do estado nutricional das gestantes *Rev IMIP* 1993; 7(1):12-5.
 37. Soares L, Más L, Cuzzo AM, Napp LM, Cunha AHM, Toniolo CE et al. Avaliação do estado nutricional na gestação. *RC: Matern Inf Ginec, Porto Alegre* 1990; 9(2):28-35.
 38. Nuñez LM. Evaluación del uso de dos diferentes patrones de incremento de peso durante el embarazo. Santiago de Chile (dissertação). Chile: Universidad de Chile, 1989.
 39. Simonetti JP, Desmond M, Navarro G, Urac M, Metter P. Perfil de la salud materna en la comuna de Putaendo. *Bol Hosp Viña del Mar* 1990; 46(1):6-10.
 40. Sinisterra O, León E, Musmano C. Riesgos nutricionales en las embarazadas. *Rev Hosp Niño Panamá* 1994; 13:27-31.

Recibido: 10-01-1997

Aceptado: 18-04-1997

Evaluación del estado de zinc en adultos mayores institucionalizados

Lesbia Meertens de R.¹, Liseti Solano² y Evelyn Peña³

RESUMEN. El adulto mayor es susceptible a modificaciones en el estado nutricional de zinc, principalmente por cuadros de deficiencia marginal, lo que contribuye a complicaciones de las enfermedades crónicas asociadas a la vejez y a estados de desnutrición. El objetivo de este estudio fue conocer el estado de zinc de 83 adultos mayores de 60 años de edad, de ambos sexos, residenciados en una institución geriátrica. La evaluación incluyó la determinación de los niveles séricos de zinc, de la enzima fosfatasa alcalina sérica y de albúmina sérica, la exploración de la sensibilidad gustativa según la técnica de Caül y la medición del consumo de energía, proteínas y zinc. Los resultados fueron los siguientes: Zinc sérico: $90,89 \pm 19,0$ $\mu\text{g/dl}$, fosfatasas alcalinas: $125,41 \pm 24,2$ UI/L, albúmina sérica $3,9 \pm 0,76$ g/dl consumo de energía: $1643 \pm 309,9$ Kcal/día, de proteínas: $56,96 \pm 3,2$ g/día, de zinc: $7,9 \pm 3,0$ mg/día, los cuales se encuentran dentro del rango normal de referencia, excepto el correspondiente al consumo de zinc que está por debajo de la recomendación respectiva. El 18,1% de los adultos mayores estaban en hipozincemia. Para sensibilidad gustativa se obtuvo un 54% de aciertos lo que sugiere que dicha percepción está afectada. Estos resultados permiten calificar a este grupo de adultos mayores, en situación de riesgo nutricional global y de zinc en particular.

Palabras clave: Zinc, micronutrientes, adultos.

SUMMARY. Zinc status of an elderly institutionalized population. Elderly people is at high nutritional risk for zinc, specially marginal deficit, which could contribute to complications of chronic diseases and undernutrition. The aim of study was to know the zinc status of 83 elderly people (older than 60), from both sexes, living in geriatric home. Zinc serum levels, alkaline phosphatase serum levels; albumin serum levels, energy, proteins and zinc dietary intake and gustative sensitivity were determined. Results expressed as mean \pm DS are the following: serum zinc: $90,89 \pm 19,0$ $\mu\text{g/dl}$, alkaline phosphatase: $125,41 \pm 24,2$ IU/L, albumin serum: $3,9 \pm 0,76$ g/dl energy intake: $1643 \pm 309,9$ Kcal/day, protein intake: $59,96 \pm 13,2$ g/day, zinc intake $7,9 \pm 3,0$ mg/day, only energy and zinc intake were deficient. 18,1% had zinc values under 70 $\mu\text{g/dl}$. There was 54% of positive responses to the taste acuity tests. This results qualify this group as at risk, specially for zinc nutritional.

Key words: Zinc, micronutrients, adults.

INTRODUCCION

El envejecimiento es un proceso caracterizado por una disminución en el funcionamiento de órganos y sistemas que debido a cambios anatómo-funcionales, pueden comprometer progresivamente el estado nutricional. Así, la disminución de la agudeza de los sentidos ocasiona modificaciones en los hábitos alimentarios de los adultos mayores, las alteraciones en los procesos de digestión y absorción de nutrientes condu-

cen a cuadros de déficit o exceso nutricional y a deficiencias nutricionales específicas que pueden ser agravados por la presencia de enfermedades crónicas. Además, el uso prolongado de medicamentos pueden comprometer la biodisponibilidad de algunos nutrientes (1-3). Entre los nutrientes afectados por estados carenciales se encuentra el zinc, cuyo consumo inadecuado e insuficiente se suma a los factores propios del envejecimiento, lo que incrementa en el anciano el riesgo de sufrir estados de deficiencias (4). Las manifestaciones clínicas de su deficiencia incluyen anorexia, hipogeusia, retraso en la cicatrización de heridas y úlceras y trastornos en la respuesta inmune (5). Todo esto predispone a estados de desnutrición, a cuadros infecciosos y a complicaciones de las enfermedades crónicas que padecen, es decir, inciden directamente sobre su morbimortalidad (6). El objetivo de este trabajo fue evaluar el estado de zinc de un grupo de adultos mayores residenciados en un hogar geriátrico, dadas sus condiciones de reclusión y vulnerabilidad a los estados de deficiencia de este oligoelemento.

1. Profesor e Investigador Asociado, Unidad de Investigaciones en Nutrición, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Carabobo. Valencia, Venezuela.
2. Médico Inmunólogo. Profesor Titular, Directora Unidad de Investigaciones en Nutrición, Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad de Carabobo. Valencia, Venezuela.
3. Lic. en Nutrición. Profesor Titular, Investigador Asociado, Unidad de Investigaciones en Nutrición, Facultad de ciencias de la Salud. Universidad de Carabobo. Valencia, Venezuela.

MATERIAL Y METODOS

El universo estuvo constituido por 308 ancianos residentes en un hogar geriátrico privado de la ciudad de Valencia situada en la región centro-norte de Venezuela al cual se nos permitió el acceso sin limitaciones.

La muestra estuvo constituida por 83 adultos mayores, 43 del sexo masculino y 40 del sexo femenino, con edades comprendidas entre 62 y 95 años (edad promedio 79,4±8,3 años).

Se excluyeron aquellos que hubieran sufrido enfermedades agudas en el último mes, que estuvieron recibiendo suplementos vitamínicos o minerales con zinc, pacientes con cáncer o bajo terapia inmunosupresiva y diabéticos. La muestra representó entonces el 30% de la población de ancianos de la institución que llenaban los criterios de inclusión. La selección final se realizó al azar por tablas aleatorias.

Evaluación bioquímica: Se extrajo sangre venosa con inyectora plástica desechable, en condiciones de ayuno. Se centrifugó inmediatamente a 5000 rpm x 10 min, una alícuota de suero se colocó en tubos de polietileno nuevos y descontaminados de trazas metálicas, para la mediciones de los niveles de zinc por Espectrofotometría de Absorción Atómica en llama de acetileno, en un espectrofotómetro modelo 3100 Perkin Elmer. El resto se utilizó para las determinaciones de albúmina sérica por Nefelometría de fase líquida utilizando Kit Turbox Albumin y de la enzima zinc-dependiente fosfatasa alcalina sérica por Colorimetría según Kit Wiener Lab. Los puntos de cortes utilizados fueron para zinc 70 µg/dl, para albúmina 3.5 g/dl (8), para fosfatasa alcalina 60 UI/L, (Kit Wiener Lab).

Evaluación dietética: Se determinó el consumo de calorías, de proteínas y de zinc de la dieta de los ancianos por el método de pesada precisa individual de todas las comidas de un día de la semana. Para el análisis nutricional, los datos se procesaron según los programas «Food Processor II» (ESHA, Research 1988) y ampliado con los datos de la Tabla de Composición de Alimentos de Venezuela. Para los cálculos sobre el contenido de zinc de los alimentos se utilizó la Tabla de Composición de Alimentos de Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (Handbook N° 8).

Evaluación de la sensibilidad del sentido del gusto: Se evaluó según la técnica de selección de Caül descrita por Wittig en 1990 (7), la cual mide la habilidad para reconocer los cuatro sabores básicos. El tipo de respuesta sensorial incluyó reconocimiento y discriminación del estímulo.

Análisis estadístico: Se aplicaron medias de tendencia central y de dispersión para las diferentes variables. Se compararon las medias entre grupos utilizando las pruebas de t y Ch2. Se establecieron relaciones entre las diferentes variables mediante la correlación de Pearson. El nivel de significancia utilizando fue 0.05.

RESULTADOS

La Tabla 1 muestra los niveles de zinc sérico de la totalidad del grupo de ancianos, los cuales están dentro del rango normal de referencia (70-120 µg/dl) (1,8). Sin existir diferencias significativas por sexo.

En relación a la enzima fosfatasa alcalina los niveles para el grupo evaluado están dentro de los valores referidos como normales. Sin que exista diferencia estadísticamente significancia entre los valores del sexo masculino y el femenino.

TABLA 1
Niveles de zinc y fosfatasa alcalina sérica de adultos mayores institucionalizados distribuidos según el sexo

	Niveles de zinc sérico (µg/dl) X ± DS	Niveles de fosfatasa alcalina sérica (UI/L) X ± DS
Masculino (n=43)	91,84 ± 19,66	127,13 ± 24,43
Femenino (n=40)	89,87 ± 18,52	123,66 ± 24,32
Grupo completo (n=83)	90,8 ± 19,0	125,4 ± 24,2

p > 0,05 no significativo

Usando 70 µg/dl como punto de corte para establecer estado de deficiencias se observó que el 18,1% de los adultos mayores evaluados estaban en hipozincemia.

Los valores promedios de consumo de energía proteína y zinc se muestra en la Tabla 2 para el grupo total y por sexo. La recomendación de energía para este grupo etario está en el rango de 2200 kcal/día para hombres y 1850 kcal/día para mujeres sedentarios lo que muestra que existía un subconsumo calórico para el grupo total y significativamente más bajo para el sexo masculino, en relación a proteína el consumo fue adecuado sobre una base de 1.1 g/kg/día mientras que para el zinc el consumo fue significativamente menor que la RDA para la población de ancianos (15 mg/día) (6).

TABLA 2
Consumo de nutrientes de la dieta de los adultos mayores institucionalizados

	Consumo grupo total X ± DS	Consumo masculino X ± DS	Consumo femenino X ± DS
Energía (Kcal/día)	1646 ± 309	1516 ± 226	1770 ± 333*
Proteínas (g/día)	56,9 ± 13,2	55,8 ± 12	58,1 ± 14,1
Zinc (mg/día)	7,9 ± 3,0	6,9 ± 1,0	8,9 ± 4,0°

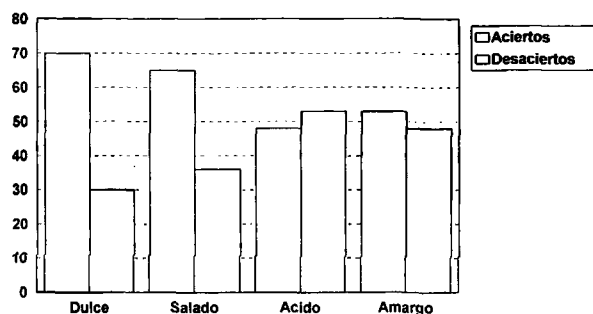
* Significativo p < 0.05

Como parte de la evaluación del estado de zinc se exploró la sensibilidad del sentido del gusto encontrándose un 54% de aciertos. En el Gráfico 1 se observa la capacidad y el reconocimiento de los sabores básicos por los adultos mayores evaluados. El 70% de los ancianos reconoció el sabor dulce y el 65% el salado. El sabor menos reconocido fue el ácido. El análisis estadístico (X^2) no mostró asociación significativa al comparar los aciertos por sexo.

La matriz de correlaciones de Pearson de las variables zinc sérico, fosfatasa alcalina y consumo de nutrientes no mostró asociaciones significativas.

GRAFICO 1

Reconocimiento de sabores básicos por el grupo de adultos mayores evaluados



Fuente: Resultados obtenidos en la investigación.

DISCUSION

Los ancianos constituyen uno de los grupos de población más vulnerables a los estados de deficiencia de zinc. Al consumo inadecuado e insuficiente del elemento se suman otros factores propios del envejecimiento como son: los trastornos en la absorción intestinal y el aumento de su excreción urinaria que hacen que se potencialice el riesgo de sufrir estados de deficiencia (4).

Para una evaluación adecuada del estado de zinc se recomienda realizar una combinación de pruebas bioquímicas y funcionales. Estudios previos en esta área reportan niveles de zinc más bajos en los adultos mayores al comparar con niños y sujetos jóvenes, lo cual se ha atribuido a diversas causas tales como una disminución de la absorción del micronutriente a nivel intestinal, a un incremento de su excreción por vía renal o a la caída de las concentraciones circulantes de albúmina sérica (5,10).

Los valores de zinc sérico encontrados coinciden con los obtenidos por Flint para ancianos institucionalizados en similares condiciones. Por el contrario, nuestros resultados señalan niveles más altos que los reportados por Gibson para los adultos estadounidenses de 65 a 74 años de edad, cuyos valores promedio fueron de 84 $\mu\text{g}/\text{dl}$ para el sexo masculino y

de 81 $\mu\text{g}/\text{dl}$ para el femenino (8,11).

La prevalencia de deficiencia de zinc sérico encontrada es mucho menor que la reportada por Paterson, (12). Este autor encontró una prevalencia de 67% al evaluar 91 ancianos en contraste con lo reportado por Dwyer, de un 3% (13).

Es importante señalar que a pesar de que los niveles de zinc están relacionados a la albúmina circulante, en estos ancianos no hubo asociación significativa entre dichas variables.

La enzima fosfatasa alcalina, es uno de los índices bioquímicos que puede ser utilizado como parte de la evaluación del estado de zinc. Se conoce que frente a un consumo insuficiente del elemento se produce una reducción rápida de dicha actividad enzimática (8).

En este estudio los niveles de fosfatasa están dentro del rango normal de referencia (60-160 U/L) sin que se evidenciara alteración de su actividad en ninguno de los ancianos, cabe destacar que no hubo diferencias significativas de los niveles de la enzima entre los normo e hipozincémicos.

Está claro que existe una disminución de la ingesta de energía a medida que avanza la edad, lo cual puede atribuirse a los cambios propios del envejecimiento a nivel sensorial, tasa metabólica basal, e inactividad física (14-17) entre otras. Para la población estudiada el consumo de energía fue menor que lo recomendado para los ancianos venezolanos (18).

El consumo de zinc en la dieta y su adecuación fue deficiente, probablemente debido al hecho de que el mayor aporte proteico de la dieta prevenía de alimentos vegetales y lácteos, donde el contenido y disponibilidad del zinc es baja (9).

La hipogeusia se considera una manifestación de la deficiencia marginal de zinc en niños y adultos, por lo que la evaluación de la sensibilidad del gusto se utiliza como un índice funcional de estado de zinc (8).

El alto porcentaje de desaciertos obtenidos como respuesta en la prueba de reconocimiento de los sabores básicos, el cual independiente de los niveles séricos del zinc, pudiera ser reflejo del proceso de envejecimiento. Estos resultados coinciden con lo reportado por Valiente y col en relación a la preservación al reconocimiento de los sabores básicos (19). Si este efecto está potencializado por deficiencias nutricionales específicas como la del zinc debe ser dilucidado mediante estudios de suplementación con el elemento.

CONCLUSIONES

Se concluye que el grupo de adultos mayores evaluados están en situación de riesgo nutricional para su estado de zinc, por tener un consumo deficiente del oligoelemento. La prevalencia de deficiencia de zinc sérico, nos permite recomendar que debe mejorarse la alimentación de grupo o realizar suplementación. Los indicadores utilizados para evaluar el estado de zinc son los mejores disponibles en el momento aunque no son lo suficiente sensibles y específicos para diagnosticar estados de deficiencia.

REFERENCIAS

1. Lindeman R. Mineral Metabolism aging and the aged. En: Nutrition, aging and health. Edit. Young E, Han Liss. Inc. New York 1986; p.61-90.
2. Couzy F, Kastenmayer P, Massouriana R, Guinchard S, Muñoz R, Dirren H. Zinc absorption in healthy elderly humans and the effect of diet. *Am J Clin Nutr* 1993; 58:694.
3. Kestetter J, Holthansen B y Fitz P. Malnutrition in the institutionalized elder adult. *J Am Diet Assoc* 1992; 92:1109-116.
4. Boukaiba N, Flament C, Acher S, Chapíns Plan A, Fusselier M. y col. A physiological amount of zinc supplementation. Effects on nutritional lipid and thymic status in an elderly population. *Am J Clin Nutr* 1993; 57:566-572.
5. Rhodus N. Zinc impaired immunity and oral disease in the geriatric patient. *Gerodontology* 1987; 3:141-145.
6. Mowé MY, Bohmmer T. Nutrition problems among home living elderly people may lead to disease and hospitalization. *Nutr Rew* 1996; 54; 1:522-524.
7. Wittig E. Metodología de evaluación sensorial. En: Evaluación Sensorial. Una metodología actual para tecnología de alimentos. Edit. Universidad de Chile 1991; p.47-90.
8. Gibson R. Assessment of trace element status. En: Principles of Nutritional Assessment. Oxford University Press, New York Oxford. 1990; p542-558.
9. Cousins R y Hempe J. Zinc. En: Conocimientos actuales sobre nutrición Edit O.P.S. Washington DC 28. 1991; p289-298.
10. Turmland J, Durkin N, Costa F y Sheldon M. Stable isotope studies of zinc absorption and retention in young and elderly men. *J Nutr* 1986; 116: 1239-1247.
11. Flint D. Zinc protein status in the elderly. *J Hum Nutr* 1981; 35:287-291.
12. Paterson P, Christensen D y Robertson D. Zinc levels of hospitalized elderly. *J Am Diet Assoc* 1985; 85:186-191.
13. Dwyer JT. Screening older americans nutritional health: current practice and future possibilities. Washington DC. Nutrition Screening initiative. 1991.
14. Morley J. Nutrition in the older female: A review. *J Am Coll Nutr* 1993; 4:337-343.
15. Ahmed F. Effect of nutrition the health of the elderly. *J Am Diet Assoc* 1992; 92:1102-1108.
16. Salyoun N, Otradamec C, Martz S, Jacob R, Peters M, Russel R y McGandy R. Dietary intakes and biochemical indicators of nutritional status in an elderly, institutionalized population. *Am J Clin Nutr* 1989; 47:424-433.
17. Ortega R, Andrés P, Melendez A, Turrero E, Gaspar M, González M y col. Influencia de la nutrición en la capacidad funcional de un grupo de ancianos españoles. *Arch Latinoam Nutr* 1992; 2:133-145.
18. Necesidades de Energía y Nutrientes. Recomendaciones para la población venezolana. I.N.N. Fundación Cavendes. Caracas, Venezuela, 1993.
19. Valiente G, Soto D y Cariaga L. Factor condicionante del estado nutricional de senescentes: sensibilidad gustativa. *Rev Chile Nutr*. Vol 17 N°1: 52-59. Abril 1989.

Recibido: 23-09-1996

Aceptado: 07-07-1997

Relación del índice cintura/cadera con la masa y el porcentaje de grasa corporal

Yolanda Hernández de Valera¹ y Rosa A Hernández H.²

RESUMEN. En 326 adultos se estudió la relación entre el índice de masa corporal (IMC) y el porcentaje de grasa corporal (PGC) con el nivel de riesgo según el índice cintura/cadera (ICC). Con el IMC se observaron adultos no obesos con altos niveles de riesgo por el ICC, así como obesos con ICC no indicativo de alto riesgo. La comparación entre el PGC y el ICC evidenció hombres sin obesidad con un ICC de alto riesgo y obesos con un ICC aceptable; predominando en las mujeres obesas el nivel riesgo aceptable por el ICC. Se da evidencias de que, aún ajustando el punto de corte para IMC y el ICC, siempre existirán falsos positivos y falsos negativos en una proporción considerable, si para la predicción del riesgo asociado con la obesidad se emplean solo indicadores de cantidad de grasa o de masa corporal total. A nivel de población la combinación del IMC y el ICC, por su facilidad técnica, pueden ser los marcadores de elección para el tamizaje de los riesgos de algunas enfermedades degenerativas crónicas no transmisibles del adulto.

Palabras clave: Antropometría, obesidad, grasa corporal, índice cintura/cadera, porcentaje de grasa, índice de masa corporal

SUMMARY. Relationship between body mass index and percentage of corporal fat. The relationship between body mass index (BMI) and the percentage of corporal fat (PCF) and the risk factor according to the waist/hip index (W/H) was studied in 326 adults. With the BMI we observed non-obese adults with a high levels of risk due to W/H ratio and obese individuals with an W/H ratio not indicating high risk. The comparison between PCF and W/H ratio indicated that we have non-obese men with an W/H ratio of high risk and obese individuals with an acceptable W/H ratio, predominant number of obese women with an acceptable risk of W/H ratio. It is evident that even adjusting the cut of point for BMI and PCF, the will always be false positives and false negatives in a considerable proportion, if for the predictions of risk associated to obesity we use only indicators of total fat and corporal mass. At population level, the combination of the BMI and the W/H ratio, could be the election mark for screening of risk in some chronicl degenerative illnesses non-transmissible in adults.

Key words: Anthropometry, obesity, fat mass, percentage of corporal fat, waist/hip ratio, body mass index.

INTRODUCCION

El peso de un individuo sano puede variar al compararse con otro de su misma edad y sexo -debido a diferencias en su tamaño y composición corporal -masa muscular, masa ósea, masa adiposa (1,2), de igual forma, personas con igual peso pueden tener una composición corporal diferente.

La obesidad, definida como un exceso de depósito de energía en forma de grasa, tiene efectos adversos sobre la salud y la longevidad por su asociación con la hipertensión, hipercolesterolemia, diabetes no dependiente de insulina y ciertos tipos de cáncer, entre otros problemas médicos (3). En general, se consideran obesas a personas que presentan valores de masa corporal total (índice de masa corporal y peso para la talla), por encima de ciertos límites (4); no obstante se acepta que la obesidad es un exceso de grasa corporal, utilizando medidas del tejido adiposo tales como los pliegues cutá-

neos (5). Los métodos para evaluar de manera más precisa la cantidad de grasa corporal total, tienen sus limitaciones: son caros, inconvenientes en ciertas condiciones clínicas, en general no están disponibles, consumen tiempo y requieren un alto grado de cooperación por parte del sujeto así como destreza técnica del medidor; por tales razones se restringen a estudios de laboratorio o consultas especializadas.

Las variables antropométricas con instrumentos disponibles para su medición y de técnicas mas sencillas, tanto en salud pública como en clínica, son en general el peso y la talla, esto induce a muchos profesionales de la nutrición a utilizar indicadores de masa corporal total para la predicción del riesgo a sufrir algunas de las enfermedades degenerativas crónicas no transmisibles del adulto. La principal limitación del IMC es que no permite diferenciar cambios entre los componentes magro y graso y puede modificarse por cambios en algunos de estos compartimientos (6). Se plantea que si bien el índice de masa corporal (IMC o peso/talla) no mide adiposidad, puede ser utilizado para medir el grado o nivel de riesgo de obesidad en una primera consulta o en condiciones que no puedan ser aplicadas técnicas más exactas (4). Además, diversas organizaciones internacionales e investigadores, han escogido al índice de Quetelet (IMC), para la evaluación antropométrica en adultos (4,7-8).

1. Profesora Titular. Universidad Simón Bolívar. Departamento de Tecnología de Procesos Biológicos y Bioquímicos. Responsable del Laboratorio de Evaluación Nutricional.
2. Investigador III. Universidad Simón Bolívar. Laboratorio de Evaluación Nutricional.

Estudios relacionados con las enfermedades, que cursan con alteraciones del metabolismo de lípidos y carbohidratos han aportado información sobre su relación con la distribución androide, abdominal, centrípeta o central de la grasa corporal tanto en hombres como en mujeres (9-11); así mismo se reporta la asociación del patrón de distribución regional de la grasa con factores de riesgo cardiovasculares y con problemas circulatorios, artritis y artrosis, entre otras entidades, que empeoran las condiciones de salud (10,12-15). La técnica extensamente utilizada para estimar la distribución regional de la grasa es la relación entre la circunferencia de la cintura y la circunferencia de la cadera (índice cintura/cadera o cociente abdominal/glúteo), para su medición se utiliza una cinta métrica y sus procedimientos son relativamente sencillos.

El elemento crucial para el cual sirve como marcador la relación entre las circunferencias de la cintura y la cadera es la cantidad de grasa abdominal, esta se asocia fuertemente como factor de riesgo de diversas enfermedades. Se plantea que en forma independiente a la masa corporal y a la cantidad de tejido adiposo, ciertos patrones de distribución regional de la grasa están asociados con alteraciones metabólicas (16). Evidencias acumuladas señalan a la hiperinsulinemia como un factor principal de riesgo cardiovascular (17-18) y a la resistencia a la insulina aumentada como el fenómeno central de la obesidad abdominal y superior (19); en consecuencia se postula que estos tipos de obesidad constituyen un riesgo cardiovascular mayor que la obesidad generalizada por sí sola (20).

En el presente trabajo se plantea estudiar, en personas adultas, la relación entre el IMC y el porcentaje de grasa corporal con el nivel de riesgo a la salud identificado por el índice cintura/cadera; como indicadores respectivamente de la masa corporal total, la cantidad relativa de la grasa corporal total y el patrón de distribución abdominal/glúteo de la grasa.

MATERIALES Y METODOS

El presente trabajo se circunscribe a datos antropométricos, los cuales forman parte de un estudio inter-áreas denominado «Proyecto Salud: Empleados Administrativos de la Universidad Simón Bolívar», planteado con el objetivo de analizar una serie de indicadores relacionados con enfermedades crónicas no transmisibles del adulto y en consecuencia útiles como marcadores del nivel de riesgo a sufrir dichas enfermedades. Las áreas participantes fueron: psicología, consumo, bioquímica y antropometría.

En total se evaluaron 326 sujetos (55.2% de sexo femenino y 44.8% de sexo masculino) con mayor número por edades simples entre 35 y 47 años. Dos personas fueron excluidas por presentar patología o condición fisiológica que afectaban la interpretación de las variables antropométricas y seis personas mayores de 59 años.

El peso se obtuvo con una balanza marca Detecto® con capacidad máxima de 140 kg. y para la estatura se empleó un estadiómetro marca Holtain Limited® obteniéndose la talla máxima (21). En las circunferencias se utilizó una cinta métrica de metal marca Holtain Limited® con escala de 0,1 centímetro; la circunferencia de la cintura fue obtenida a la mitad de la distancia entre el borde costal y la cresta ilíaca (22) y para la circunferencia de la cadera se utilizó la técnica de Lohman y colaboradores (23). Los pliegues cutáneos del tríceps y subescapular fueron obtenidos en el lado derecho del cuerpo mediante un calibre marca Holtain Limited® con presión constante de 10 g/mm² y una calibración de 0,2 mm empleando procedimientos ya establecidos (23). En las mediciones participaron dos medidores y se obtuvo un buen nivel de consistencia en la relación intermedidor e intramedidor en las diferentes variables.

Por el índice cintura/cadera, los sujetos son clasificados utilizando como límite para la identificación del riesgo el valor de 0,88 en el sexo femenino y 0,1 en los hombres (24).

Se utiliza el índice de Quetelet (25) [peso(kg)/talla(m²)] a partir del cual los sujetos con IMC $\geq 25,0$ kg/m² son clasificados como obesos y hasta 24,9 kg/m² como no obesos siguiendo los criterios de la OMS (4). En el trabajo se mantiene esta nomenclatura, a pesar de compartir plenamente el criterio según el cual una masa corporal alta solo es indicativa de sobrepeso y no de obesidad.

La cantidad de grasa corporal se estima a partir de la densidad obtenida con las ecuaciones de Durnin y Womerley (26) (Densidad = $c - m \times \log$ de la sumatoria de los pliegues del tríceps y subescapular). El porcentaje de grasa se estima a partir de la densidad, aplicando la ecuación de Siri (27). Se clasifican como obesos a los hombres con porcentaje de grasa ≥ 25 y a las mujeres con valores ≥ 30 (28).

Los datos fueron procesados en forma mecanizada. Se realizan dos grupos de comparación: a) cintura cadera Vs IMC; y b) cintura/cadera Vs porcentaje de grasa corporal total, por sexo y grupos de edad; elaborando en cada uno tablas de 2x2 entre obesos y no obesos Vs alto riesgo y riesgo aceptable. Sobre esta base se analiza: la prevalencia (observada y medida), la sensibilidad, la especificidad, los valores predictivos positivo y negativo, así como las tasas de falsos positivos y falsos negativos (29-30), en el grupo total, por sexo y por grupos de edad, a fin de estudiar la relación entre el porcentaje de grasa corporal y el IMC en la identificación del nivel de riesgo según el patrón de distribución abdominal/glúteo de la grasa (índice cintura/cadera). La existencia o no de diferencias significativas entre la prevalencia observada (por el índice cintura/cadera) y la prevalencia medida (por IMC y porcentaje de grasa) se analiza aplicando la prueba χ^2 , de igual forma se utiliza el estadístico kappa para establecer el grado de concordancia en la clasificación antropométrica del nivel de riesgo. Finalmente se efectúa un análisis gráfico de la relación del índice cintura/cadera con el IMC, el porcentaje de grasa corporal y la sumatoria de los 7 pliegues.

RESULTADOS Y DISCUSION

Las características generales del grupo de estudio se presentan en la Tabla 1.

Relación entre el índice de masa corporal (IMC) y la relación cintura/cadera: De acuerdo al criterio de clasificación propuesto por la OMS (4), 44,6% de las mujeres y 51,0%

de los hombres del estudio, tienen un IMC mayor a 24,9 Kg/m²; de ellos solo en 10,3% y 17,5% de los casos respectivamente coexisten valores altos de IMC con niveles de alto riesgo por el índice cintura/cadera. La prevalencia de valores altos, según el IMC, es de esperar ya que los valores medios del grupo de estudio se ubican en valores cercanos al punto de corte (25 kg/m²).

TABLA 1
Promedio y desviación estándar de variables e índices por sexo y grupos de edad

Sexo y grupos de edad	Nº	Edad (años)	Peso (kg)	Talla (cm)	Cintura (cm)	Cadera (cm)	Ptr (mm)	Pse (mm)	IMC (kg/m ²)	Porcentaje de grasa	Cintura/cadera
FEMENINO											
20-29	18	25.7	62.2	160.6	74.6	99.4	18.3	18.0	24.1	28.9	0.75
		2.5	9.4	5.6	8.6	7.8	6.8	8.2	3.6	5.4	0.07
30-39	59	36.0	59.3	157.0	76.0	96.6	17.9	19.8	24.0	30.7	0.79
		2.8	9.4	4.6	9.0	7.2	5.5	7.2	3.5	4.2	0.07
40-49	75	43.8	62.0	156.7	79.2	98.6	19.8	21.9	25.3	34.9	0.80
		2.4	9.0	6.1	8.6	7.6	5.4	6.8	3.3	3.6	0.06
50-59	23	52.6	64.0	156.6	80.1	98.0	19.7	20.7	26.0	37.3	0.82
		2.1	12.8	6.8	9.5	7.1	5.3	8.3	4.2	5.1	0.07
20-59	175	40.5	61.4	157.2	77.8	98.0	19.0	20.7	24.8	33.2	0.79
		7.7	9.8	5.8	9.0	7.4	5.6	7.3	3.6	5.0	0.07
MASCULINO											
20-29	17	25.9	76.2	174.1	86.4	98.2	13.0	14.9	25.1	19.7	0.88
		2.3	9.5	7.5	7.4	5.6	3.8	3.3	2.6	2.9	0.04
30-39	54	35.4	72.6	170.3	87.4	94.4	11.0	17.6	25.1	22.7	0.92
		2.9	11.0	6.2	9.5	6.3	4.8	6.4	3.7	3.4	0.06
40-49	59	43.7	71.9	167.6	89.2	94.7	11.5	19.8	25.5	26.5	0.94
		2.7	12.1	6.8	9.6	6.7	4.8	7.5	3.5	5.1	0.06
50-59	13	53.4	69.8	166.2	92.5	93.9	10.2	15.7	25.3	24.8	0.98
		3.0	11.3	6.1	10.7	7.0	3.8	6.4	3.9	5.6	0.05
20-59	143	39.3	72.5	169.3	88.5	94.9	11.4	18.0	25.3	24.1	0.93
		7.8	11.3	6.9	9.5	6.5	4.6	6.8	3.5	4.9	0.06

Promedio
Desviación estándar

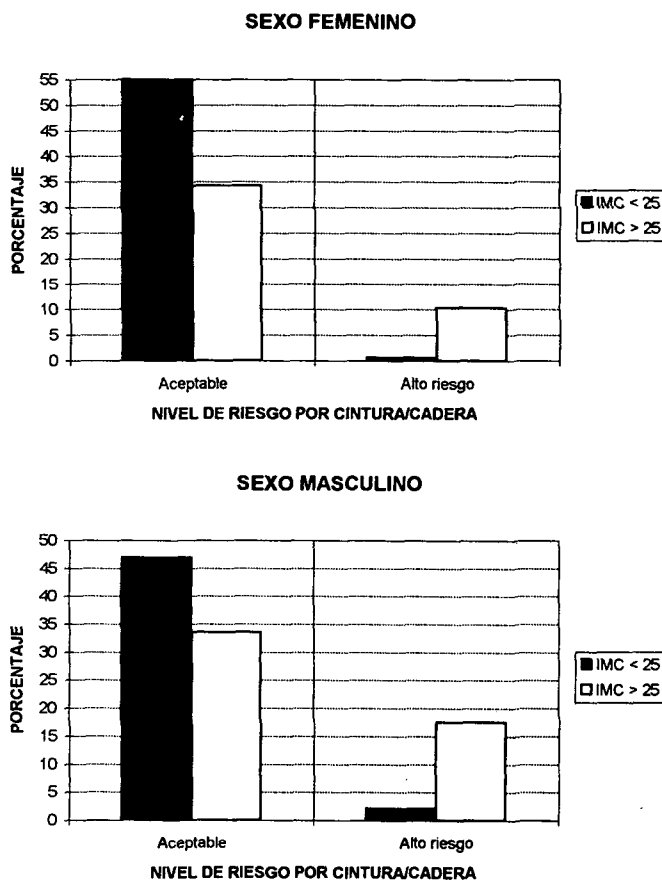
En la Figura 1 se puede apreciar que más del 30% de los sujetos tienen IMC ≥ 25 kg/m² (obesos) y un índice cintura/cadera no indicativo de alto riesgo. Estudios realizados en ciertos grupos étnicos de América, que sufren de las llamadas enfermedades de la modernización, han reportado que el IMC fue un predictor independiente de manera significativa tanto de diabetes como de hipertensión arterial (31), en hombres ingleses se ha observado además una asociación positiva entre este índice y enfermedad cardíaca, gota, artritis y cálculos de la vesícula biliar pero no con diabetes mellitus (32), en Venezuela se ha reportado un mayor porcentaje de cifras elevadas de lípidos séricos en sujetos con un IMC > 31 (33). En relación con el riesgo a presentar enfermedades degenerativas crónicas del adulto, mas importante aún, es la observación de que en algunos coexiste un IMC por debajo 25

kg/m² (no obesos) y altos niveles de riesgo por el patrón de distribución regional de la grasa (Figura 1). Por su baja prevalencia, esta característica puede afectar más la evaluación a nivel individual que en salud pública. Hartz, Rupley y Rimm (34) demostraron que los índices basados sólo en peso y talla podían no ser adecuados para caracterizar los riesgos asociados con la obesidad en estudios realizados en 32.856 mujeres; a partir de estas observaciones se popularizó el uso del índice cintura/cadera para predecir riesgos a la salud. Larsson y colaboradores (24) testimoniaron la utilidad de este índice, en base a un estudio longitudinal realizado en hombres, por su asociación directa con muerte súbita, enfermedad cardíaca isquémica y letalidad por todas las causas. También en estudios prospectivos, realizados en hombres de mediana edad, el índice cintura/cadera estuvo relacionado con un

mayor nivel de riesgo a sufrir infarto del miocardio, muerte súbita y muerte prematura sin asociación con índices de masa corporal total tales como el IMC; más aún, el mayor riesgo a infarto de miocardio y muerte prematura se encontró en hombres con un índice cintura/cadera alto y un IMC bajo (24).

FIGURA 1

Relación entre el nivel de riesgo por el índice cintura/cadera y valores altos del índice de masa corporal

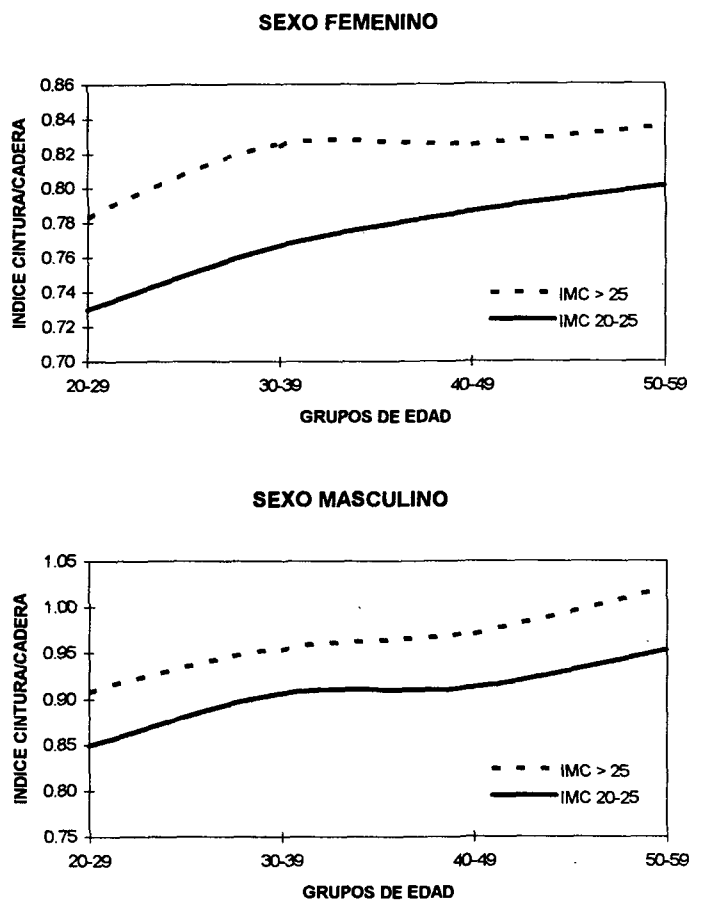


En la Figura 2 se aprecia que, tanto en el sexo masculino como en el femenino, para un mismo rango de IMC el cociente abdominal/glúteo (índice cintura/cadera), aumenta con la edad; de igual forma para el mismo sexo y grupo de edad aumentan en la misma dirección el IMC y la grasa abdominal, además se aprecia que a igual valor de IMC en el hombre el índice cintura cadera es mayor con respecto a la mujer (Figura 2). Esto significa que, en el grupo estudiado, para igual cifra o rango de masa corporal total (IMC) la cantidad de grasa abdominal y en consecuencia los riesgos asociados, aumentan con la edad y son mayores en el hombre con respecto a la mujer. Por consiguiente, un valor puntual del IMC (por ejemplo ≥ 25 ó 30 kg/m^2) como punto de corte es insuficiente para identificar a los sujetos con riesgos asociados a las enfermedades cardiovasculares. Estudios realizados en Suecia muestran que

la diferencia en la incidencia de infarto al miocardio entre los sexos, desaparece cuando se igualan por la relación entre las circunferencias de cintura/cadera; estos hallazgos probablemente significan que este índice está estrechamente unido a los factores relacionados con la diferencia entre los sexos asociados con infarto del miocardio. Esto ilustra la importancia fundamental de estudiar este indicador en relación con el riesgo a sufrir infarto (19).

FIGURA 2

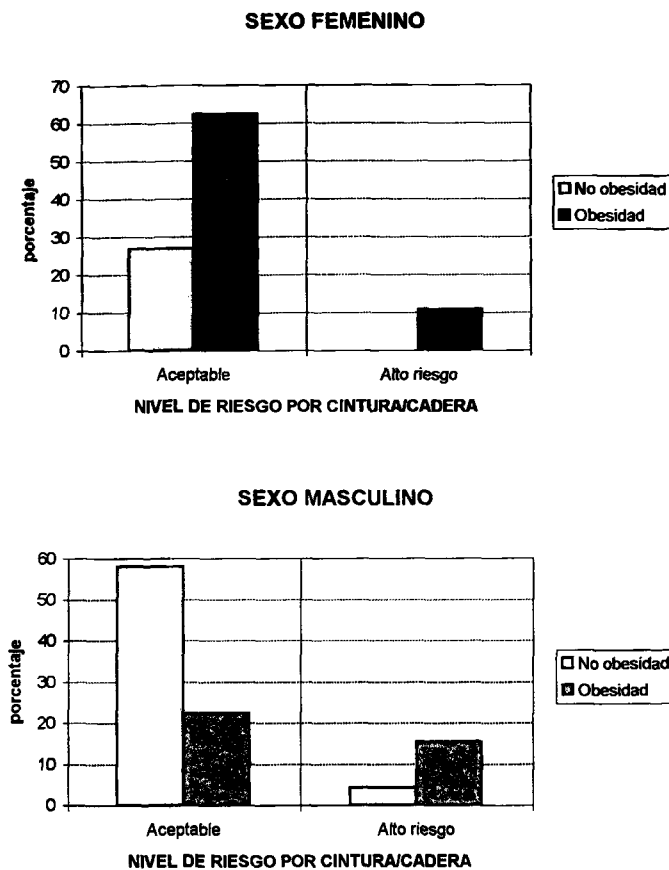
Media del índice cintura/cadera por rangos del índice de masa corporal por sexo y grupos de edad



Relación entre el porcentaje de grasa y el índice cintura/cadera: En el grupo de estudio presentan grasa alta (obesidad) 73.1% de las mujeres y 37,8% de los hombres; respectivamente de ellos 10,9% y 15,4% presentan alto riesgo por el índice cintura/cadera. En el sexo masculino 4,2% tienen un patrón de distribución de la grasa corporal característica de alto riesgo con un porcentaje de grasa corporal normal. Del mismo modo, 22,4% de los hombres y 62,3% de las mujeres son obesos con un nivel de riesgo aceptable por la relación cintura/cadera. (Figura 3).

FIGURA 3

Relación entre el nivel de riesgo por el índice cintura/cadera y el diagnóstico de obesidad por porcentaje de grasa



El incremento en la cantidad y el patrón de distribución de la grasa corporal en los individuos, ha sido asociada en los últimos tiempos con el riesgo a presentar enfermedades degenerativas crónicas tales como las cardiovasculares y cáncer, entre otras (35), por lo que su identificación en forma oportuna constituye un elemento importante para la prevención y mejoramiento del estado de salud, tanto a nivel individual como en la población (36). A la acumulación de la grasa abdominal se le vincula con un aumento en el tamaño y/o número de los adipocitos intra-abdominales metabólicamente más activos; los cuales liberan directamente ácidos grasos a la circulación portal, que pueden interferir con la depuración de la insulina en el hígado, por esto se le asigna como causa directa de algunas alteraciones metabólicas y enfermedades que acompañan a la obesidad (10). Otros autores consideran que el patrón de distribución regional de la grasa, más que una causa, es la resultante de un síndrome androgénico subyacente (37) y que existen subpoblaciones de adipocitos con sensibilidad diferente a la acción hormonal lo que explicaría la diferencias en la topografía regional de la grasa corporal. No obstante la presencia de obesidad acentúa las alteraciones

metabólicas y el patrón de distribución puede servir como marcador de ellas. Estas observaciones resaltan la importancia de considerar, en la evaluación de los riesgos a la salud asociados con las distintas formas de obesidad, tanto la cantidad como el patrón de distribución regional de la grasa.

La existencia en este estudio de personas no obesas con una relación abdominal/glútea (cintura/cadera) que denota obesidad abdominal, señala que los indicadores de cantidad relativa y distribución regional de la grasa son complementarios. Estos resultados apuntan la necesidad de incluir en forma sistemática la determinación del índice cintura/cadera en las personas que son evaluadas, aún cuando no sean obesas por exceso de grasa corporal total (obesidad generalizada).

Algunos autores plantean que las diversas localizaciones del tejido adiposo podrían tener diferentes funciones fisiológicas o un valor pronóstico para determinados factores de riesgo, de acuerdo a las características específicas de su población de adipocitos (19). Entre la grasa visceral y la glúteo-femoral existen diferencias metabólicas, la grasa visceral parece tener un recambio mucho más rápido; la grasa subcutánea abdominal, mamaria y retroperitoneal, en este sentido parecen tener una posición intermedia (9). En el grupo de estudio, el exceso de grasa corporal total está asociado en forma predominante a la distribución glúteo-femoral tanto en hombres como en mujeres, como se evidencia por el porcentaje mayor de obesos con nivel de riesgo aceptable por el índice cintura/cadera.

Los ingleses estudiados por Durnin y Womersley (26), muestran una corpulencia que aumenta con la edad en uno y otro sexo, a diferencia de los sujetos de esta investigación cuya corpulencia es más estable con la edad; el IMC es más alto en las mujeres inglesas mayores de 30 años que el de las venezolanas y en los hombres después de los 50 años; no obstante las diferencias en la corpulencia son menores que para el peso y la talla. Entre ambos estudios existen diferencias en el porcentaje de grasa, alternando valores mayores de los venezolanos o de los ingleses en los diferentes grupos de edad. Esta comparación facilita establecer las desigualdades y similitudes con el grupo que sirvió de base para la elaboración de las ecuaciones que se aplican para estimar el porcentaje de grasa corporal y podrían no ser válidas para una población diferente a la que le dio origen. Como limitante adicional se tiene que la ecuación para la estimación del porcentaje de grasa, fue establecidas en base a pliegues del hemicuerpo superior (tríceps y subescapular). Por tales razones se plantea la conveniencia de continuar estudiando la relación entre porcentaje y patrón de distribución de la grasa corporal.

Sensibilidad, especificidad y valores predictivos: En el grupo total, por sexo y grupos de edad, se puede apreciar que la prevalencia de sujetos con niveles altos de porcentaje de grasa como en IMC es mayor a la observada de alto riesgo por cintura/cadera. Prevalencias tan disímiles dan una clara explicación de los resultados de la prueba X^2 , la cual revela

diferencias estadísticamente significativas (Tabla 2). En todos los casos la sensibilidad es mayor que la especificidad en los dos bloques de contraste (cintura/cadera vs porcentaje de grasa y cintura/cadera vs IMC). No obstante el valor predictivo, del IMC o el porcentaje de grasa, para el alto riesgo es bajo o

muy bajo; esto se refleja en la alta tasa de falsos positivos, la cual mantiene igual dirección que la sensibilidad. Como es de esperar, la tasa de falsos negativos es muy baja siguiendo una relación inversa al valor predictivo negativo (Tabla 2).

TABLA 2
Identificación de alto riesgo por el índice cintura/cadera vs. diagnóstico de obesidad por porcentaje de grasa y por índice de masa corporal

	Prevalencia observada	Prevalencia medida	Sn	Sp	VP+	VP-	1-VP+	1-VP-	X ²	Kappa
Cintura/cadera vs IMC										
Todos	14.78	47.5	0.91	0.60	0.28	0.98	0.72	0.02	s	0.27
Total Femenino	10.86	44.6	0.95	0.62	0.23	0.99	0.77	0.01	s	0.24
Total Masculino	19.58	51.0	0.89	0.58	0.34	0.96	0.66	0.04	s	0.30
20-29 años	2.86	45.7	1.00	0.56	0.06	1.00	0.94	0.00	s	0.07
30-39 años	12.39	41.6	0.93	0.66	0.28	0.98	0.72	0.02	s	0.29
40-49 años	16.42	52.2	0.95	0.56	0.30	0.98	0.70	0.02	s	0.28
50-59 años	27.78	50.0	0.80	0.62	0.44	0.89	0.56	0.11	s	0.33
Cintura/cadera vs. porcentaje de grasa										
Todos	14.78	57.2	0.87	0.48	0.23	0.96	0.77	0.04	s	0.16
Total Femenino	10.86	73.1	1.00	0.30	0.15	1.00	0.85	0.00	s	0.09
Total Masculino	19.58	37.8	0.79	0.72	0.41	0.93	0.59	0.07	s	0.38
20-29 años	2.86	22.9	1.00	0.79	0.13	1.00	0.88	0.00	s	0.18
30-39 años	12.39	40.7	0.79	0.65	0.24	0.96	0.76	0.04	s	0.22
40-49 años	16.42	76.1	1.00	0.29	0.22	1.00	0.78	0.00	s	0.12
50-59 años	27.78	72.2	0.70	0.27	0.27	0.70	0.73	0.30	s	0.02

s: diferencias significativas en la estimación de la prevalencia a un nivel de confianza del 95 %

kappa: valores < 0.40 baja concordancia entre la clasificación de alto riesgo y el diagnóstico de obesidad

IMC: Índice de masa corporal (peso/talla²)

Sn: sensibilidad

Sp: especificidad

VP+: valor predictivo positivo

VP-: valor predictivo negativo

1-VP+: tasa de falsos positivos

1-VP-: tasa de falsos negativos

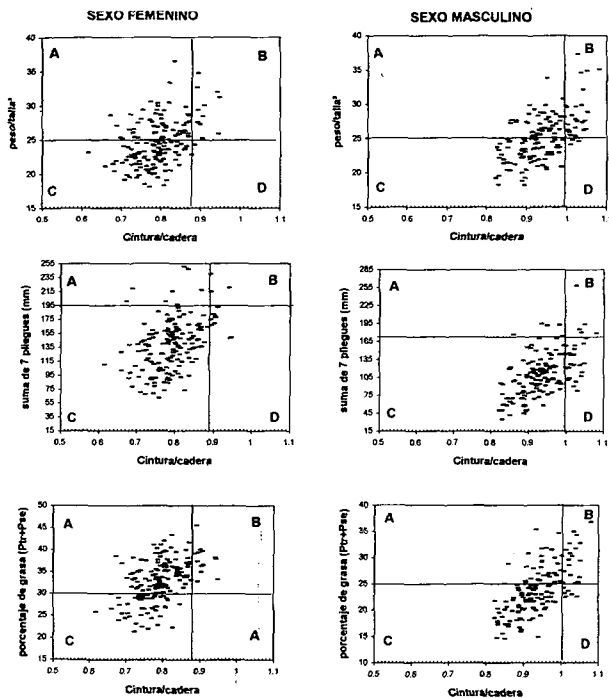
Los valores 1-VP+ y 1-VP- corresponden respectivamente, a las tasas de falsos positivos y falsos negativos (en relación al nivel de riesgo por cintura/cadera) del total de sujetos obesos por el indicador respectivo. La tasa de falsos positivos indica la proporción de sujetos obesos con un patrón de distribución glúteo-femoral predominante, de igual manera la tasa de falsos negativos apunta la medida en la cual personas no obesas tienen aumentada la cantidad de grasa en el abdomen. Expresados en términos de porcentaje, según el sexo o la edad, de cada 100 sujetos obesos por porcentaje de grasa entre 59% y 88% y entre 56% y 94% por IMC, tienen un patrón de distribución glúteo-femoral. Visto de esta manera, los resultados anteriores reflejan la limitada capacidad de los indicadores de cantidad de grasa y de masa corporal total para identificar a las personas con alto nivel de riesgo, de acuerdo a su patrón de distribución regional de la grasa corporal.

Los resultados de sensibilidad, especificidad y valores predictivos, presentados pudieran indicar la necesidad de revisar los puntos de corte tanto para el porcentaje de grasa como para el IMC. En la Figura 4 se muestra el análisis gráfico de la relación del índice cintura/cadera con el IMC y el porcentaje de grasa corporal y el efecto de los puntos de corte. Se seleccionan dos modalidades de puntos de corte: la primera basada en valores puntuales de uso internacional, para delimitar la normalidad de la obesidad, 25 kg/m² para el IMC y para el porcentaje de grasa corporal 25% en el sexo masculino y 30% en el femenino; la segunda utiliza como indicador de cantidad de grasa la suma de los pliegues del tríceps, subescapular, bíceps, muslo medio, axilar, suprailíaco y abdominal, empleando como puntos de corte + 1,5 desviaciones estándar de la media de la población en estudio (en el sexo femenino y masculino respectivamente 79 y 93 para el índice cintura/cadera; 195 y 169 para la suma de los 7 pliegues). Este

último criterio de indicador y puntos de corte se selecciona, para obviar el efecto de las posibles diferencias inducidas por las ecuaciones utilizadas para calcular el porcentaje de grasa, que se discutió en la parte de características generales. Por la diferencia entre los sexos discutida y demostrada previamente, en ambos casos, se analizan por separado los hombres y las mujeres.

FIGURA 4

Relación del índice cintura/cadera con la masa y la grasa corporal. Efectos de los puntos de corte



A: Obesos con patrón de distribución glúteo-femoral
 B: Obesos con exceso de grasa abdominal
 C: No obesos con patrón de distribución glúteo-femoral
 D: No obesos con exceso de grasa abdominal
 Suma de 7 pliegues: tríceps, bíceps, subescapular, axilar, abdominal, suprailíaco y muslo medio

Como se puede notar cada uno de los recuadros de la Figura 4 consta de cuatro secciones delimitadas por los puntos de corte del par de indicadores. Si estamos analizando capacidad de los indicadores de obesidad en la identificación del riesgo definido por el índice cintura/cadera: la letra A corresponde a las personas con masa o grasa alta con cintura/cadera normal, la letra B a los sujetos con valores altos por ambos indicadores, la letra C a los sujetos con valores normales para ambos indicadores y la letra D a los individuos con alto riesgo por cintura/cadera con masa o grasa corporal normal. En los dos recuadros superiores se aprecia que un grupo importante de sujetos de uno y otro sexo tienen un IMC (25 kg/m^2) con nivel

aceptable de riesgo por cintura/cadera; de igual forma en los dos recuadros inferiores se muestra que al emplear como límite del porcentaje de grasa para definir obesidad 25% y 30% respectivamente en el hombre y la mujer, un grupo importante de obesos, tienen un patrón de distribución glúteo-femoral de la grasa. Si de forma imaginaria se desplaza el punto de corte del índice cintura/cadera hacia la izquierda, para ubicar la totalidad de los obesos, habría que incluir prácticamente al 100% del grupo en estudio. Al utilizar en los dos recuadros intermedios los valores absolutos de la suma de los 7 pliegues vs el índice cintura/cadera, adaptando el punto de corte a 1,5 desviaciones estándar del grupo de estudio, se mantiene un grupo de divergencias importantes entre ambos indicadores.

Este análisis permite entender con claridad los resultados anteriores y da evidencias de que, aún ajustando el punto de corte o variando el indicador, siempre existirán falsos positivos y falsos negativos en una proporción considerable, si para la predicción del riesgo asociado con la obesidad abdominal se emplean indicadores de cantidad de grasa y de masa corporal total. No obstante, los tres índices antropométricos discutidos que reflejan masa corporal total, cantidad relativa de grasa corporal o patrón de distribución, han sido validados en estudios epidemiológicos, como indicadores per se de riesgo a presentar enfermedades degenerativas crónicas del adulto. Es lógico comprender que cada uno de ellos refleja características morfológicas diferentes siendo en consecuencia complementarios. La importancia de identificar y prevenir la obesidad tanto general como la acumulación de grasa abdominal, ha sido discutida ampliamente en las diferentes secciones de este trabajo.

Las enfermedades cardiovasculares son una causa de muerte frecuente en las sociedades del mundo occidental y en la mayoría de los países latinoamericanos, lo que impone mejorar los instrumentos para el diagnóstico nutricional. Estos resultados son concluyentes sobre la importancia de utilizar en la evaluación antropométrica del estado nutricional indicadores de masa corporal total, de cantidad y del patrón de distribución regional de la grasa como complementarios. La combinación del IMC y el índice cintura/cadera, por sus facilidades técnicas, pueden ser los marcadores de elección tanto a nivel de población como a nivel clínico para el tamizaje de riesgos de la salud en relación con algunas enfermedades degenerativas crónicas no transmisibles del adulto.

AGRADECIMIENTO

Al Decanato de Investigación y Desarrollo de la Universidad Simón Bolívar de Venezuela, quien financió el «Proyecto Salud: Empleados Administrativos de la Universidad Simón Bolívar», (S1-CB-508), a partir del cual se obtuvieron los datos para la presente publicación.

REFERENCIAS

1. Seltzer C, Stoudt H, Bell B, Mayer J. Reliability of relative body weight as a criterion of obesity. *Am J Epidemiol* 1970; 92 (6): 339-350.
2. Van-Itallie T, Yang M, Heymsfield S, Funk R, Boileau R. Height normalized indices of bodys fat free mass and fat mass: potentially useful indicators of nutritional status. *Am J Clin Nutr* 1990; 52 (6):953-9.
3. Frankel HM. Determination of body mass index. *JAMA* 1986; 225 (10):1292.
4. OMS. Dieta, nutrición y prevención de enfermedades crónicas. Informe de un Grupo de Estudio de la OMS. Serie de Informes Técnicos 797. 1990:76-79.
5. Frisancho AR, Flegel PN. Relative merits of old and new indices of body mass with reference to skinfold thickness. *Am J Clin Nutr* 1982; 36:697-699.
6. Garn SM, Leonard WR, Hawthorne VM. Three limitations of the body mass index. *Am J Clin Nutr* 1986; 44:996-997.
7. FAO/RELAC. IV Mesa Redonda Internacional sobre Sistemas de Vigilancia Alimentaria y Nutricional de América Latina y el Caribe. Quito Ecuador, noviembre de 1991.
8. National Institutes of Health Consensus Development Conference Statement. Health Implications of Obesity. *Annals of Internal Medicine*. 1985; 103(6 pt 2):1073-1077.
9. Krotkiewski M, Bjorntorp P, Sjostrom L, Smith U. Impact of obesity on metabolism in men and women. *J Clin Inves* 1983; 72:1150-1162.
10. Gillum RF. The association of body fat distribution with hypertension, hypertensive heart disease, coronary heart disease, diabetes and cardiovascular risk factors in men and women aged 18-79 years. *J Chron Dis* 1987; 40 (5):421-428.
11. Svendsen OL, Hassager Ch, Christiansen C. Relationships and independence of body composition, sex hormones, fat distribution and other cardiovascular risk factors in overweight postmenopausal women. *Int J Obe* 1993; 17:459-463.
12. Seidell JC, Cigolini M, Charzeweska J, Ellsinger BM, Biases G. Fat distribution in European women: a comparison of anthropometric measurements in relation to cardiovascular risk factors. In *J Epidemiol* 1990; 19 (2):303-308.
13. Reichley KB, Mueller WH, Hanis CL, Joos SK, Tulloch BR, Barton S, Schull WJ. Centralized obesity and cardiovascular disease risk in Mexican American. *Am J Epidemiol* 1987; 123 (3):373-386.
14. Baumgartner RN, Roche AF, Chumlea C, Siervogel RM, Glueck ChJ. Fatness and fat patterns: association with plasma lipids and blood pressures in adults, 18 to 57 years of age. *Am J Epidemiol* 1987; (126) 4:614-628.
15. Díaz ME, Fresneda D, Carmenate MM, Toledo EM, Wong IL, Moreno RM, Moreno VC. Características físicas y morbilidad asociada al estado de nutrición en mujeres post menopáusicas. *An Ven Nutr* 1993; 6:5-10.
16. Freedman DS, Rimm AA. The relation of body fat distribution, as assessed by six girth measurements, to diabetes mellitus in women. *Am J Pub Hlth* 1989; 79:715-720.
17. McKeigue P, Shah B, Marmot M. Relation of central obesity and insulin resistance with high diabetes prevalence and cardiovascular risk in South Asian. *Lancet*. 1991; 337:382-86.
18. Freeman D, Srinivasan S, Harsha D, Webber L and Berenson G. Relation of Body patterning to lipid and lipoprotein concentrations in children and adolescent: The Bogalusa heart study. *Am J Clin Nutr* 1989; 50: 930-9.
19. Bjorntorp P. Regional obesity. En: Obesity. Cahpter 49. Bjorntorp, and Bernard eds. JB Lippincot Co. Philadelphia. 1992; 579-586.
20. Peiris AN, Sothmann MS, Hoffmann RG, Hennes MI, Wilson ChR, Gustafson AB, Kissebach AH. Adiposity, fat distribution, and cardiovascular risk. *Ann In Med* 1989; 110:867-872
21. Weiner J S y Lourie J A. Human Biology. A guide to field method. International Biological Program. Oxford. Blackwel Scientific Publications. Handbook. No. 9. 1969; pp3-16.
22. Oliver G. Practical Anthropology. Springfield, Illinois. Charles Thomas. 1969.
23. Lohman T G, Roche A F y Martorell R. Anthropometric Standardization Reference. Illinois. Human Kinetics Books. 1988; pp.177.
24. Larsson B, Svardstudd K, Welin L, Wilhelmsen L, Bjorntorp P, Tibblin G. Abdominal adipose tissue distribution, obesity, and risk of cardiovascular disease and death: 13 years follow-up of participants in the study of men born 1913. *Br Med J* 1984; 288:1401-1404.
25. Quetelet LA. Anthropométrie ou mesure des différentes facultes de l'homme. C Muquardt. 1871. Original no consultado, compendiado en: Hortob-gyi T, Israel RG and O'Brien. Sensitivity and Specificity of the Quetelet Index to Assess Obesity in Men and Women. *Eur J Clin Nutr* 1994; 48:369-375.
26. Durnin JVGA, Womersley J. Body fat assessment from total body density and its estimation from skinfolds thickness: measurements on 481 men and women aged from 16 to 72 years. *Br J Nutr* 1974; 32:77-97.
27. Siri WE. Body composition from fluid spaces and density: Analysis of methods. En: Techniques for Measuring Body Composition. National Academy of Sciences, National Research Council, Washington, DC., 1961; 223-244. Original no consultado, compendiado en Gibson RS. Nutritional Assessment: A laboratory Manual. Oxford University Press. New York. 1993 pp.98.
28. Pollock ML y Wilmore JH. Exercise in health and disease. Philadelphia: WB 1990.
29. Freire W. Criterios de clasificación y puntos de corte. En: Taller sobre evaluación nutricional antropométrica en América Latina. Informe de la reunión. López Blanco M, Hernández Valera Y, Torún B, Fajardo L eds. Ediciones Cavendes. Caracas, Venezuela. 1995; 91-99.
30. Onis de M, Yip R, Habicht JP, Victora C. Criterios de clasificación y puntos de corte. En: Taller sobre evaluación nutricional antropométrica en América Latina. Informe de la reunión. López Blanco M, Hernández Valera Y, Torún B, Fajardo L eds. Ediciones Cavendes. Caracas, Venezuela. 1995; 67-89.
31. Young TK, Sevenhuysen G. Obesity in northern Canadian indians: patterns, determinants, and consequences. *Am J Clin Nutr* 1989; 49:786-793.
32. Weatherall R, Shaper AG. Overweight and obesity in middle-aged British men. *Eur J Clin Nutr* 1988; 42:221-231.
33. Méndez de Pérez B. Composición corporal y su relación con los niveles de lípidos séricos. *Ann Ven Nutr* 1990; 3:29-34.
34. Hartz AJ, Rupley DC, Rimm AA. The association of girth measurements with disease in 32.856 women. *Am J Ep* 1980; 119 (1):71-80.
35. Knapp T. A methodological critique of the «Ideal body weight», concept. *JAMA* 1983; 250:506-510.
36. Keys A. Overweight obesity, coronary heart disease and mortality. *Nutr Rev* 1980; 38(9):297-307.
37. Bjorntorp P. Classification of obese patients and complications related to the distribution of surplus fat. *Am J Clin Nutr* 1987; 45:1130-1125.

Recibido: 23-08-1996

Aceptado: 11-07-1997

Efeito da pectina e celulose nos níveis de somatomedina C e síntese de proteoglicano no músculo e cartilagem de ratos

Julio Tirapegui¹, Gloria Silva², Kristine Bruscatto³, Ana Paula Silvatti³, Solange Tomoe Osuka³

Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental - Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade de São Paulo, Brasil

RESUMO. A suplementação de 15% de pectina na dieta causa diminuição do crescimento, porém o mecanismo desse processo não está ainda estabelecido. Concentração plasmática de somatomedina C ou insulin-like growth factor-I (IGF-I) e síntese de proteoglicano no músculo e na cartilagem foram comparados em ratos em crescimento alimentados com dietas de 8,5% de proteína e teores de 7,5 e 15% de celulose e pectina, respectivamente. No experimento 1 (G1-G6) foi usada celulose como fonte de fibra e no experimento 2 (G7-G11) pectina. Uma acentuada redução no peso, ingestão de alimento e crescimento do músculo e do osso foram observado no grupo alimentado com pectina 15%. A concentração plasmática de somatomedina C correlacionou com a síntese de proteína e de proteoglicano no osso no grupo alimentado com pectina 15%. No entanto, nos grupos alimentados com celulose a maioria dos parâmetro analisados não foram alterados, com exceção dos grupos alimentados com a mistura de arroz e feijão (grupos G5 e G6). Nosso estudo sugere que a suplementação de pectina na dieta prejudicou o crescimento devido a menor ingestão de alimento, reduzida resposta anabólica com menor síntese de proteína e de proteoglicano refletindo uma menor ação e secreção da somatomedina C.

Palavras chave: Somatomedina C, pectina, proteoglicano, ratos.

SUMMARY. Effect of pectin and cellulose on insulin-like growth factor (IGF-I) levels and proteoglycan synthesis rate in muscle and rat cartilage. The inclusion of 15% pectin in a diet causes growth retardation in rats, but the mechanism for the impaired growth has not been established. Serum concentration of IGF-I and proteoglycan synthesis rate on muscle and the tibial epiphysis, an estimate of biological response to IGF-I in a target tissue, were compared in weaning rat fed with 8,5% protein and levels of 7,5 and 15% of pectin and cellulose, respectively. In experiment 1 (G1-G6) was used cellulose as source of fiber and in experiment 2 (G7-G11) pectin. A marked reduction in weight, muscle and bone growth was observed for the groups fed on 15% pectin. Plasma IGF-I concentration correlated with both protein and tibial proteoglycan synthesis rate in the group with 15% pectin diet. However, in the group fed with cellulose the most of the parameters were well maintained, with exception the group fed with beans and rice (G5 e G6). Our study suggest that the inclusion of pectin in a experimental diet impairs growth by a combination of reduced food intake, a reduced anabolic response to food due to a reduced protein and proteoglycan synthesis possibly reflecting impaired IGF-I action and secretion.

Key words: Pectin, proteoglycan, rat cartilage.

INTRODUÇÃO

Conforme foi verificado por Waterlow e cols. (1), existem vários fatores que condicionam o crescimento do indivíduo. Entre estes a relação proteína/calorias totais, energia, vitaminas, minerais e fibra, desempenham um papel muito importante no aproveitamento da dieta e consequentemente no crescimento corporal.

Considera-se fração «fibra da dieta», o conjunto de componentes dos alimentos vegetais que resistem a hidrólise pelas enzimas endógenas do tubo digestivo. Tais componentes incluem a celulose, a lignina, as hemiceluloses, pectinas, gomas, mucilagens e ceras. Pequenos teores de proteínas, lipídeos e glicídeos normalmente digeríveis, as vezes não o

são, aumentando o valor energético do volume excretado (2). O interesse pela fração não absorvível do alimento surgiu de observações clínicas que relacionaram a ocorrência de certas moléstias ao tipo de dieta pobre em fibra natural de produtos vegetais. Assim Burkitt (3) apresentou relação dessas moléstias típicas de coletividade desenvolvidas entre as quais se destacam: hipertensão arterial, obesidade, colite ulcerativa, diverticulite, câncer do intestino grosso, além de síndromes isquêmicas miocárdicas, colesterolemia e artrite reumatóide.

As ações prováveis da fibra, que vêm sendo mais discutida na literatura, são aquelas que dizem respeito ao aproveitamento biológico dos minerais, glicose e colesterol (2,4,5). Entretanto a relação proteína e fibra na dieta tem sido pouco abordada, apesar de ser fato conhecido que altos teores de fibra da dieta limitam o aproveitamento da proteína (2,6). Sabe-se que o consumo elevado de fibra aumenta o volume do bolo fecal. O aumento deste conteúdo pode derivar de material não digerível, secreção endógena ou de nutrientes da dieta que não foram degradados e absorvidos. O nitrogênio nas fezes foi

1. Professor Associado.
2. Aluna de Pós-Graduação.
3. Aluna de Graduação.

primeiramente associado com a massa de bactérias e células descarnadas, entretanto, evidências experimentais sugerem que em dietas ricas em fibra a origem deste nitrogênio pode ser endógeno ou dietético. Estudos «in vitro» têm sugerido que várias fontes de fibra podem interagir com as enzimas digestivas, reduzindo sua atividade e consequentemente interferindo negativamente no processo de digestão das proteínas (7).

Alguns autores (8) tem estudado a relação da proteína e fibra da dieta no crescimento em crianças. Os principais parâmetros utilizados foram, peso ao nascimento, ferro, vitamina B₁₂ e raquitismo. Considerando-se os níveis de proteína e o tipo e quantidade de fibra na dieta, os autores sugerem que dietas com altas quantidades de fibra são prejudiciais para crianças em fase de crescimento.

Foi demonstrado que, modificações na dieta de ratos podem causar alterações permanentes quando impostas durante períodos críticos de crescimento, como é o caso da última fase do desenvolvimento intra-uterino, período de lactação e pós desmame. A probabilidade de lesão permanente será tanto maior quanto mais precoce for a deficiência nutricional (9). Como o organismo não possui reservas de proteínas, há necessidade de um suprimento exógeno de nitrogênio e aminoácidos essenciais. Os aminoácidos dentre os vários tipos de nutrientes, desempenham papel fundamental na fisiologia e crescimento celular (1).

Há uma relação direta entre o crescimento ósseo e muscular, evidenciada pelo fato de que o comprimento do osso é o determinante primário da massa muscular corporal em todas as espécies. Desta forma, no adulto, quando o crescimento do osso cessa, o crescimento do músculo é mínimo. Tem sido sugerido que o estiramento muscular por efeito do crescimento ósseo ao qual o músculo está unido, é um pré requisito para o crescimento do músculo e determina o crescimento coordenado destes dois tecidos (10).

Além dos fatores nutricionais, o crescimento normal depende, também, de uma regulação coordenada de fatores hormonais. Evidências acumuladas nos últimos anos sugerem que muitas das influências hormonais no crescimento são reguladas pela família das somatomedinas (11). A ingestão de energia e de proteína em níveis adequados são fatores de grande importância na regulação dos níveis da somatomedina C e, consequentemente, do crescimento muscular e ósseo em humanos e animais em crescimento. Em ratos em crescimento, a redução da ingestão de proteínas e caloria originam uma queda imediata dos níveis plasmáticos da somatomedina C (9). Esses autores observaram uma correlação significativa entre o teor de proteína da dieta e os níveis de somatomedina C. A atividade da somatomedina C é determinada pela incorporação de sulfato radioativo nas moléculas de proteoglicano. Maior incorporação de sulfato no proteoglicano, significa maior concentração plasmática de somatomedina C. Estudos recentes (12) têm assinalado que os níveis de somatomedina C plasmática representam um parâmetro bastante sensível na detecção de deficiência protéico-calórica em

humanos e os seus valores se correlacionam significativamente com as determinações de balanço nitrogenado. Além disso, estes valores aumentam rapidamente em decorrência da recuperação nutricional ou realimentação em humanos desnutridos.

A importância das somatomedinas em geral e da somatomedina C, em particular, já se encontra parcialmente estabelecida. Entretanto a maior parte das pesquisas mencionadas na literatura, restringem-se ao enfoque da relação da somatomedina, crescimento e energia da dieta. No entanto, esta complexa interação, indubitavelmente, está também sob a influência da interação, proteína e fibra da dieta.

As populações economicamente menos favorecidas, nos países em desenvolvimento consomem grandes quantidades de fibra e níveis marginais de proteínas de fonte vegetal reconhecidamente de qualidade inferior. Neste estudo reproduzimos em animais de laboratório situações observadas frequentemente em populações de baixa renda, tais como, insuficiente ingestão protéica associada a teores aumentados de fibra na dieta. Utilizamos também um grupo alimentado com proteínas de cereais e leguminosas (arroz-feijão) que constituem a base da alimentação da população brasileira. Afirma-se que 69% do total protéico consumido pela população do Brasil é de origem vegetal (13). Dependendo da região, a proporção da relação arroz-feijão, varia, sendo as de 47:53 ou de 82:18 as mais comuns. Os estudos realizados por De Angelis e cols. (13) revelaram que a proporção 77:23 deu os melhores resultados em diferentes parâmetros de avaliação nutricional em ratos em crescimento quando comparados ao grupo controle, motivo pelo qual foi a proporção escolhida para o nosso experimento.

O objetivo deste trabalho foi determinar a influência da fração fibra da dieta na regulação do crescimento em altura. Este estudo foi realizado em ratos em crescimento até 30 dias após desmame submetidos a graus variáveis de proteína e tipo e quantidade de fibra da dieta.

MATERIAIS E MÉTODOS

Animais de experiência e dietas: Foram utilizados ratos machos «Wistar» recém desmamados com peso médio de 45 + 2g, provenientes do Biotério da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP.

Foram preparadas 3 dietas experimentais com teores de 20, 8,5 e 8,5% de proteína respectivamente. A dieta 1 foi constituída de caseína 20% e a dieta 2 foi de caseína 8,5%. A dieta 3 foi a base da mistura arroz-feijão na proporção de 3:1 (8,5% de proteína). Cada dieta foi dividida em duas partes recebendo percentagens de fibra de 7,5 e 15% respectivamente (Tabela 1).

As misturas de sais e vitaminas foram feitas de acordo com as recomendações da AIN 93 (16). O teor calórico de todas as dietas foi aproximadamente de 400 Kcal/100 g.

TABELA 1
Composição das dietas experimentais

Componentes (g/100g)	G1	G2	G3	G4	G5	G6
Caseína ¹	20	20	8,5	8,5	-	-
Mistura arroz/feijão ²	-	-	-	-	8,5	8,5
Fibra ³	7,5	1	5	7,5	15	- 15
Mistura salina	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5
Mistura vitamínica	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Sacarose	10	10	10	10	10	10
Bitartrato de colina	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Óleo de soja	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0
Amido	62,5	55,0	62,0	54,5	8,2	-
DL metionina	0,3	0,3	0,1	0,1	0,1	0,1

1. Caseína contendo 85% de pureza
2. O valor da Tabela é o valor correspondente à percentagem de proteína da mistura arroz-feijão.
3. Fibra insolúvel: celulose, G1 a G6. Fibra solúvel: pectina, G7 a G11

Procedimento experimental. Este trabalho foi composto de dois experimentos com duração de 30 dias cada. No primeiro, determinou-se os efeitos dos diferentes níveis de proteína e fibra insolúvel da dieta sobre o desenvolvimento corporal total, do músculo gastrocnêmio e do osso. No segundo experimento foram utilizados os mesmos teores proteicos do primeiro, porém o tipo de fibra foi a pectina, que é fibra solúvel

Os ratos recém desmamados foram divididos em 6 grupos experimentais (grupos G1 a G6). O grupo 1 e 2 (controles) foram alimentados com dieta de caseína 20% com teores de fibra de 7,5% e 15%. O grupo 3 e 4 receberam caseína 8,5% e teores de fibra de 7,5% e 15%. O grupo 5 e 6 receberam mistura arroz-feijão na proporção 3:1 com teor protéico de 8,5% e teores de fibra de 7,5 e 15%. Na primeira parte do estudo foi utilizada fibra insolúvel (celulose) e na segunda, (grupos G7 a G11) fibra solúvel que é a pectina (Tabela 2).

Os animais foram pesados no desmame e mantidos com as dietas experimentais por 30 dias, sendo pesados a cada 4 dias e sacrificados aos 51 dias de idade.

Todos os animais foram sacrificados entre 08:00 e 11:00 horas. O sangue, o músculo gastrocnêmio e a tibia de ambas as pernas foram retiradas e armazenadas em freezer a -20°C para determinações bioquímicas posteriores.

Metodos analíticos. As diferentes rações foram analisadas quanto ao teor de cada componente segundo os métodos descritos pela AOAC. A fração fibra foi determinada pelo método enzimático, segundo APS e cols. (14), onde analisaram as frações solúveis e insolúveis. O crescimento da tibia foi determinado em milímetro manualmente com paquímetro (Norma).

As dosagens dos ácidos ribonucléico (RNA) e proteína em homogeneizado de cartilagem e músculo e as proteínas

plasmáticas foram realizados segundo os métodos descritos previamente (9).

A atividade da somatomedina C ou síntese de proteoglicano na cartilagem da epífise da tibia e no músculo gastrocnêmio foi determinada pelo método descrito por Yahya e cols. (15). O método consiste em determinar a incorporação de sulfato radiativo nos tecidos (cpm/100 mg tec.). Esta incorporação é estimulada pela somatomedina C.

A determinação de somatomedina C plasmática foi realizada por radioimunoensaio (RIA) segundo técnica descrita previamente (9). Foi utilizado um kit de RIA fornecido pela Amersham (UK).

Os valores dos diversos parâmetros estudados foram submetidos à análise de variância e posteriormente pelo teste de Duncan. O nível de rejeição da hipótese de nulidade adotada foi de 5%.

TABELA 2
Grupos experimentais com fibra insolúvel (celulose) e solúvel (pectina). Duração dos experimentos 30 dias

Grupos (N)a		Tratamento dietético
Grupo 1 (G1)	caseína	20% + 7,5% celulose
Grupo 2 (G2)	caseína	20% + 15% celulose
Grupo 3 (G3)	caseína	8,5% + 7,5% celulose
Grupo 4 (G4)	caseína	8,5% + 15% celulose
Grupo 5 (G5)	arroz/feijão	8,5% + 7,5% celulose
Grupo 6 (G6)	arroz/feijão	8,5% + 15% celulose
Grupo 7 (G7)	caseína	20% + 7,5% pectina
Grupo 8 (G8)	caseína	20% + 15% pectina
Grupo 9 (G9)	caseína	8,5% + 7,5% pectina
Grupo 10 (G10)	caseína	8,5% + 15% pectina
Grupo 11 (G11)	arroz/feijão	8,5% + 15% pectina

- a: oito ratos por grupo.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nos dois experimentos determinou-se a influência da somatomedina C plasmática no crescimento do tecido muscular e ósseo. Este foi avaliado pelo aumento da massa protéica e de proteoglicano nos tecidos assinalados. Foi determinado também a proteína plasmática, parâmetro indicativo do estado nutricional dos animais de experimentação.

Em ambos experimentos foram estudados os efeitos da fibra em ratos alimentados com a mistura arroz-feijão na proporção 3:1, como é realmente consumido pela população brasileira.

Analisando as tabelas 3 e 4 podemos observar que os ratos alimentados com pectina apresentaram o menor ganho de peso durante todo o período experimental. Os grupos alimentados com pectina 15% (grupos G10 e G11) apresentaram menos de 50% do ganho de peso quando comparado ao grupo controle.

TABELA 3

Peso corporal inicial, final, variação do peso, consumo de proteínas e de ração total nos ratos alimentados com ração contendo celulose. Valores expressos em média (desvio padrão)

Grupos	N	Peso Corporal (g)		Ganho de peso (g)	Consumo total (g) ração	Consumo total (g) protéico
		Inicial	Final			
G1	8	49 (3)	189 (22)	150 (23)	403 (44)	71,8 (7,8)
G2	7	49 (4)	186 (21)	145 (22)	425 (61)	71,5 (7,4) _{bd}
G3	8	49 (3)	182 (13)	133 (14)	424 (32)	29,2 (2,2) _{bd}
G4	7	51 (4)	188 (11) _a	146 (9) _a	460 (43)	33,8 (3,2) _{bd}
G5	8	49 (2)	152 (11) _a	129 (10) _a	414 (44) _c	41,4 (4,4) _{bd}
G6	7	50 (2)	151 (12) _a	113 (16) _a	381 (61) _c	34,3 (5,5) _{bd}

N. número de determinações

- a. significativamente diferente dos grupos G1, G2 e G4 (P<0.05).
 b. significativamente diferente dos grupos G1, G2 e G5 (P<0.05).
 c. significativamente diferente de todos os outros grupos (P<0.05).
 d. significativamente diferente do grupo G5. (P<0.05).

TABELA 4

Peso corporal inicial, final, variação do peso corporal, consumo de proteína e de ração total nos ratos alimentados com ração contendo pectina. Valores expressos em média (desvio padrão)

Grupos	N	Peso Corporal (g)		Ganho de peso (g)	Consumo total (g) ração	Consumo total (g) protéico
		Inicial	Final			
G7	8	52 (3)	194 (17)	143 (16)	377 (30)	60,1 (4,8)
G8	7	52 (3)	158 (11) _b	109 (11) _b	312 (26) _c	55,2 (4,7) _f
G9	6	50 (2)	145 (14) _b	102 (6) _b	353 (35)	30,6 (3,0) _d
G10	8	50 (2)	113 (5) _a	63 (6) _a	300 (24) _c	23,4 (1,9) _e
G11	8	52 (3)	127 (7) _a	67 (8) _a	313 (34) _c	29,5 (3,2) _d

N. número de determinações

- a. significativamente diferente de G7, G8 e G9 (P<0.05)
 b. significativamente diferente de G1 (P<0.05)
 c. significativamente diferente de G7 e G9 (P<0.05).
 d. significativamente diferente de G7, G8 e G10 (P<0.05).
 e. significativamente diferente de G9 e G11 (P<0.05).
 f. significativamente diferente de G7 (P<0.05).

Em nosso experimento os teores de fibra foram 7,5 e 15%, sem dúvida, maiores que os recomendados pela literatura para o crescimento de ratos. Devemos salientar no entanto, que estes teores foram escolhidos devido ao fato de que a mistura arroz-feijão na proporção 3:1, após determinação da fração, apresentou o valor de 7,5%. Em relação a concentração de proteína da mistura arroz-feijão, os valores encontrados foram de 8,5%. Este teor protéico pode ser considerado como marginal no rato em crescimento, ocasionando deficiência protéica moderada.

Uma das características mais importantes da deficiência protéica em ratos na fase de crescimento é o retardo desse

crescimento, verificado pela redução de peso corporal. Este menor ritmo não foi observado nos ratos alimentados com caseína 8,5% mais celulose. Somente os grupos alimentados com a mistura arroz-feijão apresentaram diferenças significativas neste parâmetro. Estas observações vão de encontro com a literatura (9) onde, outros autores registraram resultados semelhantes em ratos alimentados com caseína 7,5% mais 5% de celulose. Com relação aos grupos alimentados com fibra solúvel pectina, as diferenças observadas no peso corporal final foram acentuadas e diretamente proporcional ao consumo da ração total. Houve diferenças significativas no peso corporal dos animais alimentados com o mesmo teor protéico porém, com diferente concentração de pectina. A medida que aumentava a fibra na dieta diminuiu o peso corporal total. Estes resultados sugerem que a fibra solúvel prejudicou o crescimento do animal de forma mais intensa que a celulose.

A deficiência protéica moderada na dieta é geralmente acompanhada por reduzida ingestão de alimento. Isto foi confirmado no segundo experimento, nos ratos alimentados com pectina. A diminuição do apetite no grupo 10 e 11 seria responsável por uma redução no fornecimento das principais fontes calóricas do organismo como, lípidos e glicídeos, além de proteínas. Esta situação, segundo alguns autores (17) poderia representar um mecanismo de defesa do qual se valeria o organismo animal, com o objetivo de atenuar os efeitos da deficiência protéica. Em nosso experimento com pectina o consumo da ração foi menor a medida que aumentava a concentração de fibra solúvel na dieta.

O peso médio do músculo gastrocnêmio e da cartilagem e o comprimento da tibia, dos ratos com tratamento dietético de celulose e pectina, são apresentados nas tabelas 5 e 6, respectivamente. No primeiro experimento, os ratos alimentados com dietas contendo a mistura arroz-feijão + 15% celulose, foram os que apresentaram os menores valores nos três parâmetros analisados, (peso do músculo gastrocnêmio, da cartilagem e comprimento da tibia), demonstrando a semelhança do peso corporal que esta dieta não induz um crescimento corporal e de tecidos semelhante ao grupo controle com o mesmo teor protéico e de fibra (grupos G3 e G6). No segundo, ratos alimentados com dietas contendo pectina, os menores valores apresentados foram os do grupo 10, alimentados com caseína 8,5% + 15% de pectina pura. Com relação ao peso do músculo e do comprimento da tibia, no grupo 11, podemos observar que estes dois parâmetros apresentaram-se significativamente maiores do que os valores do grupo 10. Entretanto, é necessário salientar que a ração do grupo 10 apresentava reais 15% de pectina, enquanto que a ração do grupo 11 foi acrescida apenas de 7,5% de pectina, pois a mistura arroz-feijão já apresentava 7,5% de fibra total, considerando a solúvel e a insolúvel. Os parâmetros plasmáticos analisados nos dois experimentos são apresentados nas tabelas 5 e 6. Quanto a proteína total verificamos que o grupo G6 alimentado com a mistura arroz-feijão 8,5% + 15% celulose apresentou os menores valores deste parâmetro. Não houve diferenças

significativas quando foram comparados os grupos G1-G2 e G3-G4, demonstrando mais uma vez que o aumento da fibra no grupo 6 prejudicou o metabolismo de proteína no fígado.

TABELA 5

Peso médio do músculo gastrocnêmio e da cartilagem da epífise da tibia, comprimento total da tibia, proteína total e somatomedina C plasmática dos ratos alimentados com dietas contendo celulose. Valores expressos em média (desvio padrão)

Grupos	N	Peso médio(mg) músculo	Cartilagem	Comprimento tibia (mm)	Proteína total (g/100ml)	Somatomedina C (ng/ml)
G1	16	822 (80)	84 (9)	33,76 (0,80)	8,05 (0,76)	1146 (240)
G2	16	826 (63)	83 (8)	33,36 (0,48)	7,89 (0,74)	1100 (241)
G3	16	783 (59)	79 (5)	33,26 (0,40)	7,50 (0,38)	886 (183)
G4	16	781 (71)	84 (6)	33,66 (0,61)	8,04 (0,84)	1099 (125)
G5	16	726 (83)	71 (7) ^b	32,64 (0,68) ^d	7,29 (0,65)	855 (312) ^g
G6	16	651 (80) ^a	76 (9) ^b	30,19 (0,64) ^c	6,57 (0,50) ^e	184 (36) ^f

N. número de determinações

- a. significativamente diferente a todos os outros grupos (P<0.05)
 b. significativamente diferente dos grupos G1, G2 e G4 (P<0.05)
 c. significativamente diferente de todos os outros grupos (P<0.05)
 d. significativamente diferente dos grupos G1, G2, G3, G4 e G6 (P<0.05)
 e. significativamente diferente de todos os outros grupos (P<0.05)
 f. significativamente diferente de todos os outros grupos (P<0.05)
 g. significativamente diferente de G1, G2 e G4 (P<0.05)

TABELA 6

Peso médio do músculo gastrocnêmio e da cartilagem da epífise da tibia, comprimento total da tibia, proteína total e somatomedina C plasmática dos ratos alimentados com dietas contendo pectina. Valores expressos em média (desvio padrão).

Grupos	N	Peso médio(mg) músculo	Cartilagem	Comprimento tibia (mm)	Proteína total (g/100ml)	Somatomedina C (ng/ml)
G7	16	829 (74)	87(9)	33,89(0,83)	7,38(0,41) ^d	1023(250)
G8	16	615 (59) ^a	70 (5) ^a	32,09(0,29) ^a	6,45(0,49)	332(103) ^f
G9	16	549 (53)	72 (8)	31,41(1,00)	6,33(0,78)	200(57) ^f
G10	16	417 (26) ^h	52 (3) ^g	29,29(0,47) ^h	6,00(0,24)	65(8) ^g
G11	16	454 (62)	56 (5)	30,58(0,84)	6,25(0,61)	68(9)

N. número de determinações

- a. significativamente diferente de G7, G9, G10 e G11 (P<0.05)
 b. significativamente diferente de G7, G8, G9 e G11 (P<0.05)
 c. significativamente diferente de todos os outros grupos (P<0.05)
 d. significativamente diferente de todos os outros grupos (P<0.05)
 e. significativamente diferente de G7, G8 e G9 (P<0.05)
 f. significativamente diferente de G7, G10 e G11

A menor oferta de aminoácidos no fígado constitui fator limitante na manutenção das proteínas plasmáticas e albumina em níveis normais, especialmente quanto aos aminoácidos de cadeia ramificada (18). Estes resultados estão de acordo com

os dados de outros autores (9) que não encontraram diferenças significativas quando foram comparadas a albumina e proteína total plasmáticas de ratos submetidos a dietas de caseína 7,5% com o grupo controle, 20%. Em geral a proteína total e a uréia são bem conservadas em condições de deficiência protéica-energética moderada.

Com relação ao segundo experimento, nos ratos alimentados com dieta contendo pectina, verificamos que os grupos G8, G9, G10 e G11 apresentaram diferenças significativas quando comparadas com o grupo controle, demonstrando o efeito mais acentuado da pectina em relação a celulose neste parâmetro.

Quanto a somatomedina C plasmática (tabelas 5 e 6) foram observadas diferenças acentuadas nos seus valores, entre os diferentes grupos. Tanto nos ratos de dietas com celulose quanto nos ratos com dietas com pectina. A semelhança dos outros parâmetros analisados a concentração plasmática deste hormônio dos grupos do segundo experimento com pectina apresentaram os menores valores que nos grupos 10 e 11 corresponderam a 7% dos valores encontrado no grupo G7 controle.

Este estudo confirma resultados de outros autores (19,20,21) que observaram uma correlação altamente significativa entre a somatomedina C, peso corporal e comprimento da tibia. Yahya e cols (22) verificaram também uma correlação altamente positiva entre somatomedina C e outras variáveis (proteína, energia e insulina plasmática) em ratos previamente alimentados com dietas de caseína 0,5% e realimentados com dietas de caseína de 3%, 6%, 9%, 12% e 20%. Segundo estes autores, a proteína da dieta apresentou a maior correlação com a somatomedina C (P<0.001) e a variável energia, também, mostrou influência significativa (P<0.01).

A qualidade da proteína é um fator que deve ser considerado no estudo da concentração de somatomedina C plasmática. Miura e cols (23) observaram que os níveis plasmáticos em ratos alimentados com proteína de soja estavam diminuídos quando comparados com o grupo controle, alimentado com caseína. Foi comprovado também por esses autores, uma diminuição do m RNA para somatomedina C em ratos alimentados com proteína de glúten, comprovadamente deficiente em alguns aminoácidos essenciais. Estes resultados demonstraram que o conteúdo do m RNA para somatomedina C é regulado não só pela quantidade mas também, pela qualidade da proteína.

Em nosso experimento, possivelmente houve influência no grupo G5 e G6 tanto da quantidade de fibra presente na dieta, especialmente no grupo 6 (15% de celulose) quanto da qualidade protéica da mistura arroz-feijão. Os valores encontrados para somatomedina C no grupo 6 corresponderam a 16% de valor encontrado no grupo controle G1.

Referente a interação fibra e somatomedina C a literatura científica nos oferece pouca informação. Nunes e Malmlof, (24) em porcos alimentados com dieta com celulose e goma quar comprovaram que só os animais alimentados com goma

quar tiveram uma menor produção de somatomedina C. Quando os porcos ingeriram celulose não houve diferenças significativas na síntese de somatomedina em relação ao grupo controle. Não encontramos na literatura dados sobre a ingestão de pectina e os níveis plasmáticos de somatomedina C. Fora dos fatores nutricionais, a concentração de somatomedina plasmática, depende de fatores hormonais. Dados de outros autores (25) sugerem que a insulina é de fundamental importância na síntese de somatomedina c. Assim por exemplo, em ratos diabéticos por efeito da estreptozotocina foram encontrados valores de somatomedina C drasticamente reduzidas. Tirapegui (26) recentemente comprovou uma relação direta entre os níveis de somatomedina c e insulina em ratos em crescimentos submetidos a graus variáveis de energia e proteína da dieta. Outros autores (27) também comprovaram que animais desnutridos ou tratados com corticosterona, apresentaram uma acentuada diminuição das concentrações de insulina e somatomedina C plasmática, como também diminuição do comprimento e da variação do comprimento da tibia, sugerindo que houve uma inibição da ação e da síntese de somatomedina C.

A síntese de proteoglicano e a concentração do RNA no músculo gastrocnêmio dos ratos dos dois experimentos são apresentados nas tabelas 7 e 8. Analisando os dados da síntese de proteoglicano podemos constatar nos animais alimentados com arroz-feijão 8,5% + celulose 15% (G6) no primeiro experimento e nos ratos com caseína 8,5% + 15% pectina (G10) e arroz-feijão 8,5% + 15% pectina (G11) do segundo, apresentaram menores valores significativamente em relação aos seus grupos controles G1 e G7, respectivamente. Estes resultados estão de acordo com os valores de somatomedina C plasmática analisados anteriormente. No grupo G11 com pectina 15% o valor encontrado correspondeu a 55% de valor controle G7 demonstrando mais uma vez o efeito negativo de altos teores de fibra no crescimento. Os valores da concentração de RNA seguem a mesma tendência.

Com relação ao metabolismo de proteína no músculo, o aumento da massa muscular é determinada pelo balanço entre a síntese e a degradação de proteína. Trabalhos de vários autores (1,10,15,28) enfocaram os aspectos endocrinológicos e nutricionais neste processo, com especial enfoque ao papel da insulina, corticosterona, hormônio da tireóide, de crescimento e somatomedina C. Sem dúvida uma análise completa deste processo é impossível no presente estudo, devido ao fato de não ter realizado a determinação dos outros hormônios impossibilitando conseqüentemente uma discussão mais aprimorada dos resultados obtidos.

TABELA 7

RNA, proteína e síntese de proteoglicano no músculo gastrocnêmio de ratos alimentados com dietas contendo celulose. Valores expressos em média (desvio padrão)

Grupos	N	RNA (μ g/100mg)	Proteína (mg/100mg)	Proteoglicano (cpm/100mg tec.)
G1	6	167 (8)	18 (3)	1332 (200)
G2	7	140 (8)	17 (3)	1313 (221)
G3	8	153 (12)	16 (3)	1394 (180)
G4	6	108 (8)a	12 (1)b	1562 (200)
G5	6	123 (11)a	10 (2)b	1452 (200)
G6	6	110 (12)	10 (2)b	983 (140)c

N. número de determinações

- a. significativamente diferente de G1, G2, G3 e G6 (P<0.05).
- b. significativamente diferente de G1, G2 e G3 (P<0.05).
- c. significativamente diferente dos outros grupos (p<0.05).

TABELA 8

RNA, proteína e síntese de proteoglicano no músculo gastrocnêmio dos ratos alimentados com dietas contendo pectina. Valores expressos em média (desvio padrão).

Grupos	N	RNA (μ g/100mg)	Proteína (mg/100mg)	Proteoglicano (cpm/100mg tec.)
G7	7	126 (8)	17 (4)	1442 (150)
G8	6	152 (12)	16 (3)	1390 (140)
G9	7	145 (9)	16 (2)	1285 (123)
G10	8	128 (5)a	11 (3)b	637 (90)c
G11	8	119 (8)a	10 (2)b	696 (81)c

N. número de determinações

- a. significativamente diferente dos grupos G8 e G9 (P<0.05).
- b. significativamente diferente dos grupos G7, G8 e G9 (P<0.05).
- c. significativamente diferente dos grupos G7, G8 e G9 (p<0.05).

Os resultados dos parametros analisados na cartilagem da epifise da tibia são apresentados nas tabelas 9 e 10. Os dados obtidos, seguem a tendência geral das outras variáveis estudadas. Com relação a síntese de proteoglicano os ratos alimentados com dieta com pectina apresentaram as maiores alterações quando comparados entre si. Houve diferenças significativas entre os diferentes grupos tanto pela quantidade de proteína quanto pela fibra. O grupo arroz-feijão 8,5% + 15% de pectina (G11) apresentou o valor correspondente a 23% de síntese de proteoglicano dos animais do grupo controle G7. Estas diferenças foram menos intensas que as concentrações de somatomedina C plasmática obtidas nos mesmos grupos e apresentadas na tabela 6.

TABELA 9

RNA, proteína e síntese de proteoglicano na cartilagem de ratos alimentados com dietas contendo celulose. Valores expressos em média (desvio padrão)

Grupos	N	RNA ($\mu\text{g}/100\text{mg}$)	Proteína ($\text{mg}/100\text{mg}$)	Proteoglicano ($\text{cpm}/100\text{mg tec.}$)
G1	7	245 (38)	8,23 (1,09)	2552 (250)
G2	6	229 (44)	8,25 (0,69)	2584 (255)
G3	7	238 (28)	8,12 (0,12)	2696 (270)
G4	7	236 (47)	7,27 (1,03)	2720 (250)
G5	7	194 (18)a	5,76 (1,21)b	2551 (200)
G6	7	176 (35)a	5,62 (0,88)b	1520 (130)c

N. número de determinações.

a. significativamente diferente dos grupos G1, G2, G3 e G4 ($P < 0.05$).

b. significativamente diferente dos grupos G1, G2, G3 e G4 ($P < 0.05$).

c. significativamente diferente dos outros grupos ($p < 0.05$).

TABELA 10

RNA, proteína e síntese de proteoglicano na cartilagem dos ratos alimentados com dietas contendo pectina. Valores expressos em média (desvio padrão)

Grupos	N	RNA ($\mu\text{g}/100\text{mg}$)	Proteína ($\text{mg}/100\text{mg}$)	Proteoglicano ($\text{cpm}/100\text{mg tec.}$)
G7	6	245 (29)	7,81 (0,30)	2550 (145)
G8	8	284 (32)	7,68 (0,95)	2000 (120)e
G9	7	234 (45)	7,74 (0,75)	1400 (150)d
G10	7	177 (42)a	6,68 (0,30)b	750 (90)c
G11	7	171 (40)a	6,44 (0,23)b	600 (75)c

N. número de determinações

a. significativamente diferente dos grupos G7, G8 e G9 ($P < 0.05$).

b. significativamente diferente dos grupos G7, G8 e G9 ($P < 0.05$).

c. significativamente diferente dos grupos G7, G8, e G9 ($p < 0.05$).

d. significativamente diferente dos grupos G7 e G8 ($p < 0.05$).

e. significativamente diferente de G7 ($p < 0.05$).

As concentrações de RNA e proteína dos grupos G5 e G6 da mistura arroz-feijão + celulose apresentaram os menores valores quando comparados aos outros grupos experimentais e essa tendência foi mantida neste mesmo grupo porém quando a fibra da dieta foi a pectina.

Estes resultados comprovam que a mistura arroz-feijão acrescida da fibra tanto nas concentrações 7,5 e 15% não promovem um crescimento normal semelhante aos animais do grupo controle. Possivelmente outros fatores podem estar interferindo no aproveitamento dos nutrientes neste tecido. Estes resultados estão de acordo com os dados apresentados por Martines e cols (29). Estes autores também observaram em ratos, uma correlação positiva nos valores da concentração de proteína obtida no tecido ósseo e a concentração plasmática

de somatomedina C. Os menores valores foram obtidos nos ratos alimentados com proteína de origem vegetal com teores de 13%, quando comparados com o grupo controle, caseína. Possivelmente, fatores antinutricionais presentes nos legumes utilizadas, foram os responsáveis pelo menor aproveitamento da proteína de origem vegetal e consequentemente, do menor crescimento do tecido ósseo. Yahya e cols (15,30) também observaram níveis reduzidos dos conteúdos de proteína, atividade do RNA e das concentrações de RNA na cartilagem da epífise da tibia, em ratos submetidos a dietas hipoproteicas acentuadas por 3 semanas. Segundo estes autores a análise da correlação parcial das diferentes variáveis estudadas sugere a somatomedina C óssea regula especificamente os mecanismos de síntese protéica e de proteoglicano da cartilagem. No músculo, entretanto, a síntese protéica seria regulada principalmente pela ação da insulina.

Devemos salientar, que ao contrário da insulina, a somatomedina C é transportada no sangue unida a proteínas transportadoras ou Binding proteins (IGF-BPs). A função específica dos BPs ainda não está esclarecida, no entanto, já se sabe que uma de suas funções é regular a ação da somatomedina nas células alvos (14,31). A literatura nos relata que ratos alimentados com dietas hipoproteicas, apresentam uma inibição da incorporação de sulfato no proteoglicano e de leucina marcada na proteína devido a ação dos inibidores da somatomedina C no tecido ósseo. Além disso, em condições de deficiência protéica, aumentam a concentração do IGF-B1-1. O IGF-BP-1, pode competir com a somatomedina C ao nível dos receptores na superfície das células inibindo a ação deste hormônio e consequentemente, o crescimento (31). Podemos especular que o aumento da fibra na dieta, especialmente a pectina pode alterar as concentrações dos Binding proteins ou aumentar os inibidores da somatomedina presente no plasma, alterando consequentemente a ligação hormônio-receptor da célula alvo e diminuindo o crescimento ósseo, do músculo e finalmente o crescimento corporal total. No entanto, isto é somente uma hipótese e necessita ser provada.

Pelos resultados apresentados neste estudo podemos sugerir que o aumento do teor da fibra na dieta, especialmente a fibra solúvel pectina, teve um efeito negativo em relação ao crescimento. O mecanismo de ação desta relação entre fibra e crescimento do tecido muscular e ósseo permanece indefinido. Mas estudos são necessários para dirimir as dúvidas apresentadas entre a trinômio, fibra na dieta, somatomedina C e crescimento corporal durante as fases do desenvolvimento.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a FAPESP e CNPq pelas bolsas de estudos concedidas e pelo apoio financeiro e a Sra. Mônica Dealis Perussi pelo excelente trabalho secretarial.

REFERENCIAS

1. Waterlow JC, Garlick PJ, Millward DJ. Protein turnover in mammalian tissues and the whole body. Amsterdam. : Biomed. Press, Elsevier/North Holland, 1978.
2. Lajolo FM, Cozzi TMC, Menezes EW. Carboidratos e fibras. In: Carrazza F.R.; Maarcondes E. Nutrição clínica em pediatria. São Paulo : Sarvier, 1991; p.61-84.
3. Burkitt DP. Some diseases characteristic of modern Western civilization. *Br Med J* 1973; 1:274-276.
4. Eastwood MA. The physiological effect of dietary fiber: an update. *Ann Rev Nutr* 1992; 12:19-35.
5. Gibson RS. Content and bioavailability of trace elements in vegetarian diets. *Am J Clin Nutr* 1994; 59:1223S-1232S.
6. Larsen FM, Wilson MN, Moughan PJ. Dietary fiber viscosity and amino acid digestibility, proteolytic digestive enzyme activity and digestive organ weights in growing rats. *J Nutr* 1994;124:833-841.
7. Méndez MH, Derivi SC, Fernández ML, De Oliveira AM. Insoluble dietary fiber of grain food legumes and protein digestibility. *Arch Latinoamer Nutr* 1993; 43:66-72.
8. Sanders T, Sheela R. Vegetarian diets and children. *Am J Clin Nutr* 1994; 59(suppl):1176S-1181S.
9. Tirapegui J, Baldi M, Ribeiro SML. Effect of protein deficiency on plasma insulin-like growth factor-I (IGF-I) level and protein and proteoglycan synthesis rates in skeletal muscle and bone. *Nutr Res* 1996;16:869-879.
10. Millward DJ. Protein turnover in cardiac and skeletal muscle during a normal growth and hipertrophy. In: Degradative processes in heart, and skeletal muscle. K. Wildenthal, ed. Amsterdam, 1980; p.161-199.
11. Tirapegui J, Fukushima SE, Grimaldi G. Consideraciones sobre crecimiento, somatomedina y nutrición. *Arch Latinoamer Nutr* 1993; 43:94-104.
12. Burgess EJ. Insulin-like growth factor-I: a valid nutritional indicator during parenteral feeding of patients suffering an acute phase response. *Ann Clin Biochem* 1992;29:137-144.
13. De Angelis RC, Elías LG, Bressani R. Mezclas de arroz y frijol II. Valor nutricional de las proteínas de las mezclas. *Arch. Latinoamer Nutr* 1982;32:47-63.
14. Asp NG, Johansson CG, Hallmer H, Siljeström M. Rapid enzymatic assay of insoluble and soluble dietary fiber. *J. Agric Food Chem* 1983; 31:476-482.
15. Yahya ZAH, Bates PC, Millward DJ. Response to protein deficiency of plasma and tissue insulin-like growth factor-I levels and proteoglycan synthesis rate in rat skeletal muscle and bone. *Endocrinol J* 1990;127:497-503.
16. Reeves PG, Nielsen FH, Fahey Jr GC. AIN-93 Purified diets for laboratory rodents: Final report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the reformulation of the AIN-76 rodent diet. *J Nutr* 1993;123:1939-1951.
17. De Angelis RC, Takahashi N, Amaral LA, Terra IC. Imbalanced protein and appetite. *Arq Gastroenterol.* 1978; 15:194-198.
18. Young VR, Marchini JS, Cortiella J. Assessment of protein nutritional status. *J Nutr* 1990; 120:1496-1502.
19. Prewitt TE, D'Ercole AJ, Switzer BR, Vav Wik JJ. Relationship of serum immunoreactive somatomedin C dietary protein and energy in growing rats. *J Nutr* 1982;112:144-150.
20. Soliman AT, Hassan AI, Aref MK, Hintz RL, Rosenfeld RG, Rogol AD. Serum insulin-like growth factor-I e II concentrations and growth hormone and insulin responses to arginine infusion in children with protein-energy malnutrition before and after nutrition rehabilitation. *Pediatr Res* 1986; 20:1122-1130.
21. Thissen JP, Ketelslegers JM, Underwood LE. Nutritional regulation of the insulin-like growth factors. *Endocrine Rev* 1994;15:80-101.
22. Yahya ZAH, Tirapegui J, Bates PC, Millward DJ. Influence of dietary protein, energy and corticosterone on protein turnover, proteoglycan sulphation and growth of long bone and skeletal muscle in the rat. *Clin Sci* 1994; 87: 607-618.
23. Miura Y, Kato H, Noguchi T. Effect of dietary proteins on insulin-like growth factor-I (IGF-I) messenger ribonucleic acid content in rat liver. *Br J Nutr* 1992; 62:257-265.
24. Nunes CS, Malmlof K. Effects of guar gum and cellulose on glucose absorption hormonal release and hepatic metabolism in the pig. *Br J Nutr* 1992; 63:693-700.
25. Goldstein S, Unterman TG, Phillips LS. Nutrition and somatomedin. XV. Growth plate, growth factor and biological active somatomedins in rats with streptozotocin-induced diabetes. *Ann Nutr Metabol* 1987; 31:367-377.
26. Tirapegui J. Efeito da somatomedina C no crescimento do músculo e do osso. Estudo em ratos submetidos a graus variáveis de energia e proteína da dieta. São Paulo, 1995. (Tese de Livre-Docência, Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo - Brasil).
27. Tirapegui J, Yahya ZAH, Bates PC, Millward DJ. Effect of corticosterone and energy restriction on IGF-I levels, cartilage matrix synthesis on bone growth in the rat. *Proc Nutr Soc* 1987;46:94A.
28. Millward DJ. The nutritional regulation of muscle growth and protein turnover. *Aquaculture* 1989;79:1-28.
29. Martínez JA, Marcos R, Macarulla MT, Larralde J. Effect of pea intake on bone protein synthesis and immunoreactive IGF. *Proc Nutr Soc* 1993; 52:139A.
30. Yahya ZAH, Bates PC, Tirapegui J, Morel D, Buchanan C, Milleard DJ. IGF-I concentration in protein deficiency rat plasma and tissue in relation to proteoglycan synthesis rate. *Biochem Soc Trans* 1988;16:624-625.
31. Sara VR, Hall K. Insulin-like growth factors and their binding proteins. *Physiol Rev* 1990;70: 591-613.

Recibido: 10-10-1996

Aceptado: 13-10-1997

Reliability of the Western ligand blot method for the simultaneous relative estimations of serum insulin-like growth factor binding proteins (IGFBPs)

María Teresa Ochoa², Karin Fhølenhag¹, Kjell Malmjöf¹, Myriam Sánchez-Gómez², Anna Skottner.¹

SUMMARY. It is well established that nutrition is an important regulator of both serum insulin-like growth factor-I (IGF-1) and its binding proteins (IGFBPs). The Western ligand blot method (WLB) for simultaneous determinations of IGFBPs in serum or plasma samples was evaluated and validated with emphasis on its reproducible capabilities. After electrophoretic separation and transfer, the membranes were incubated with a mixture of recombinant labeled human (GF-I/IGF-II (rhIGF-I/rhIGF-II) and band intensities measured by autoradiography. The typical electrophoretic profile for pig serum, as determined with molecular weight markers, showed four mainbands of approximately 42-39, 32, 30-28 and 24 kDa which seemed to correspond to IGFBP-3, IGFBP-2, IGFBP-1 and IGFBP-4 respectively. Likewise, a triplet of approximately 42-39 kDa (IGFBP-3), a broad area called IGFBP-30 region (most probably IGFBP-1, -2 and -3 variants) and a third band of ~ 24 kDa (IGFBP-4) were seen in rat samples. Determination of IGFBP-2 and -1 in rat serum samples, as two separate bands on 12% gels was difficult due to their close electrophoretic migration and possibly to the reported lower levels of IGFBP-2 in adult rat serum. Dilutions tested on 0.2 µm nitrocellulose membranes with sample volumes between 0.25 to 1.5 µl (1:10-1:60 dilutions), showed IGFBPs curves with good linearity which suggest first, that there exist a quantitative relation between the amount of each protein and the densitometric response and second, that the transfer of the proteins was linear across the range of 0.25 to 1.5 µl (1:10-1:60 dilutions). Moreover, the results also suggest that losses were equally spread and that the proteins retained their binding properties after the transfer process. Reproducibility showed intra-assay coefficients of variation (CVs) of 15% or lower using either a transfer device without cooling system or a combination of a transfer device with cooling system and manually defined band boundaries. In summary, it was shown that the optimized experimental conditions here described for the WLB method, allow reliable simultaneous measurements of the main pig and rat serum IGFBPs and therefore, could be utilised to detect changes in the serum profile after dietary manipulations.

Key words: Western ligand blot, insulin, binding proteins.

RESUMEN. Confiabilidad del método de «Western ligand blot» para la determinación simultánea de las proteínas de unión de los factores de crecimiento similares a la insulina (IGFBPs) en suero. La nutrición es un regulador importante de los niveles séricos de IGF-1 y de sus proteínas de unión (IGFBPs). En este trabajo, el método de Western Ligand Blot (WLB) fue evaluado y validado con énfasis en la reproductibilidad de la técnica, con el fin de realizar determinaciones simultáneas de las IGFBPs en suero o plasma. Una vez realizada la separación electroforética de las proteínas y sus transferencia a membranas de nitro-celulosa, las membranas se incubaron con una mezcla de IGF-1/IGF-II recombinantes humanos marcados radiactivamente y se determinaron las intensidades de las bandas por autorradiografía. El perfil electroforético típico del suero de cerdo mostró cuatro bandas principales de aproximadamente 42-39, 32, 30-28 y 24 kDa que corresponden probablemente a IGFBP-3, IGFBP-2, IGFBP-1 e IGFBP-4, respectivamente. De manera similar, el suero de rata mostró un triplete de aproximadamente 42-39 kDa (IGFBP-3) y una banda amplia de aproximadamente 30 kD que se designó como región IGFBP-30 (probablemente IGFBP-1 y -2 junto con variantes de IGFBP-3). Debido a la movilidad electroforética muy semejante de las proteínas IGFBP-2 y -1 de rata en poliacrilamida al 12% no fue posible realizar su determinación en forma individual. Otro factor que dificulta el análisis de IGFBP-2 de rata son los niveles circulantes tan bajos que se han reportado para esta especie. La evaluación de la linealidad del método se realizó aplicando volúmenes de suero comprendidos entre 0.25-1.5 µl (diluciones 1:10-1:60), sobre membranas de nitrocelulosa de 0.2 µm de tamaño de poro. Los resultados mostraron linealidad para cada IGFBP, lo cual sugiere que existe una relación cuantitativa entre las concentraciones de cada una de las proteínas y la respuesta densitométrica y que la transferencia de las proteínas fue lineal en el rango de 0.25-1.5 µl de suero (diluciones 1:10-1:60). Además, los resultados indican que las proteínas transferidas conservan sus propiedades de unión al ligando y que las posibles pérdidas de proteína durante el proceso de transferencia se distribuyeron uniformemente. La determinación de la reproductibilidad del método mostró coeficientes de variación (CV) intraensayo del 15% o menores, para transferencias en cámaras refrigeradas o sin refrigeración y mediante definición manual de las bandas. En resumen, en este trabajo se muestra que el método de WLB en las condiciones experimentales aquí descritas, permiten en forma confiable la determinación simultánea de las principales IGFBPs en suero de cerdo y de rata. Por lo tanto, este método podría ser útil para detectar cambios en los perfiles séricos de dichas proteínas como consecuencia de manipulaciones nutricionales. Palabras clave: Método «Western ligand blot», insulina, proteínas de unión.

1. Department of Pharmacology, Pharmacia, Stockholm Sweden
2. Department of Chemistry, Universidad Nacional de Colombia, Santa Fe de Bogotá, Colombia

INTRODUCTION

Most of IGFs in body fluids, do not exist as free polypeptides but are bound to a family of IGF binding proteins (IGFBPs). So far, six IGFBPs have been identified and their primary structures determined by molecular cloning from human and rat tissue libraries (1). Although each of the proteins consist of 200-300 aminoacids and the alignment of cysteines in the amino and carboxy-terminal ends has been well preserved, these proteins represent different gene products with little homology in the midregion. Each of the binding proteins has an unique pattern of expression and hormonal regulation (1). IGFBP-3 is present in the circulation in concentrations that are 10 to 100 fold higher than IGFBP-2 and -1, respectively, whereas serum concentrations of IGFBP-4, -5 and -6 are low (2). The knowledge about the functional roles of the IGFBPs remains incomplete but the largest differences between the *in vivo* insulin and IGF-I effects are related to their presence.

It is established that nutrition regulates the IGFBPs levels and that they respond to the energy and protein content of the diet in several species. In the rat both fasting and protein deficiency decreases IGFBP-2 (3) whereas protein restriction may increment the hepatic IGFBP-2 mRNA (4) although the effect on the serum levels of the protein are less clear. In addition it has been demonstrated that the hepatic IGFBP-1 mRNA is markedly increased by protein restriction and fasting (5).

At present one of the most commonly used methods for the analysis of serum IGFBPs is the Western Ligand Blot method (WLB), first described by Hossenlopp et al (6) for studies of the proteins using labeled IGF-I as ligand. The quantitative potential of the method for measurements of the hIGFBP-1 biological activity was later assessed by Grissom et al (7) using labeled IGF-II and it was suggested that IGFBP-1 and possibly other IGFBPs, can be adequately measured by the technique since similar concentration and nearly identical sensitivities were found among quantitation of IGFBP-1 by specific hIGFBP-1 radioimmunoassay (RIA) and by WLB.

The present study was performed to further describe the intra-assay variation when the WLB method is employed for determinations of IGFBPs and suggest ways in which these variations could be reduced to enable its utilization for the simultaneous analysis of the main pig and rat serum IGFBPs using a mixture of iodinated IGF-I and IGF-II tracers.

MATERIAL AND METHODS

Plasma samples: Normal human and rat blood samples ($\approx 500 \mu\text{l}$) were taken in EDTA coated tubes from normal volunteers and normal rats (Sprague-Dawley, 3-4 months fed with a standard chow). Pig blood samples were obtained from catheterised animals (40 kg). Samples were stored in the refrigerator during 30 min and centrifuged. Plasma was kept at -20°C until use.

Sample preparation: Samples were mixed with buffer Laemmli (8) containing SDS boiled for 3 min and kept on ice water short before electrophoresis. For analyses of reproductibility 1:10 serum dilutions were processed mixing $10 \mu\text{l}$ of the sample buffer with $10 \mu\text{l}$ of sample and adding $80 \mu\text{l}$ of a 1:1 dilution of sample buffer in water (Lalou, pers: comm. 1994). Then, $15 \mu\text{l}$ volume equivalent to $1.5 \mu\text{l}$ of the original sample were loaded onto the gels (10 wells). Pig and rat standard curves were run either by mixing 0.5, 1.0, 1.5 and $2.0 \mu\text{l}$ samples directly with a mixture of sample buffer in water (1:1) to a final volume of $15 \mu\text{l}$ or in 1:10, 1:15, 1:30, 1:60 and 1:150 dilutions respectively. In the later case, $15 \mu\text{l}$ of the mixture were loaded onto the gel and were equivalent to $1.5, 1.0, 0.5, 0.25$ and $0.1 \mu\text{l}$ of the original sample, respectively.

IGF preparation and labeled IGFs. Recombinant human IGF-I (rhIGF-I, batch DSQ-23) and rhIGF-II (batch HJDF01) were from Pharmacia (Stockholm, Sweden) and GroPep (Adelaide S.A., Australia) respectively. Iodination of each IGF was carried out by the Iodogen method (9). Briefly, $20 \mu\text{l}$ ($2 \mu\text{g}$) of IGF were added to an iodogen coated tube containing $10 \mu\text{l}$ of 0.5 M phosphate buffer (pH 7.4). The reaction was let to proceed for 4 min at room temperature under gentle agitation and was stopped by transferring the mixture to a siliconized tube containing 0.05 M phosphate buffer (pH 7.4). The labelled IGFs were purified by gel filtration on Sephadex G-25 PD 10 columns (Pharmacia Biosystems AB) equilibrated in 0.05 M phosphate buffer (pH 7.4). Specific activities achieved by this method ranged between $80-100 \mu\text{Ci}/\mu\text{g}$. In addition, aliquots of ^{125}I -IGF-II were further purified before the assays through Sephadex G-50 (1x17 cm) equilibrated in 0.1 M ammonium acetate (pH 7.4) containing 0.2% bovine serum albumin (BSA Sigma RIA grade). The iodinated products were stored at -20°C until use.

Gel electrophoresis: Sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS PAGE) was performed by the Laemmli method (8) under non reducing conditions running usually two gels on the Novex, c-cell apparatus (Mini-cell, Sorrento Valley Blvd, CA, USA). Samples dilutions or directly prepared ($15 \mu\text{l}$) were loaded onto 12% Tris-glycine pre-cast polyacrylamide gels (1 mm; Novex, Sorrento Valley Blvd, CA), electrophoresed stepwise at 30-40 mA (100-150 V) per gel during 2 h until the dye front reached the gel bottom.

Electrotransfer: The process was carried out as described by Hossenlopp (6). Before transfer, each gel slab was soaked in transfer buffer (0.015 M Tris base, 0.12 M glycine, pH 8.3 containing 15% of methanol). The equilibrated gels were placed on buffer saturated transfer nitro-cellulose membranes either 0.45 or $0.2 \mu\text{m}$ (Sorrento, Valley Blvd CA, and Bio Rad Transfer Medium, Richmond, CA, USA) and packaged between two buffer saturated Whatman N° 3 filter papers pads and two Bio Rad Schotch Bride pads. The electrotransfer was next performed in transfer buffer at 300 mA (constant current) for 3 h using in initial experiment the Novex Blot Module (San

Diego, CA, USA) without cooling system which besides required less volume of buffer to fill the tank. In the following experiments, the Hoefer apparatus (Hoefer Scientific Instruments, CA, USA) equipped with a cooling device was employed. The need to use a second transfer device obeyed to the higher intra-assay coefficients of variation obtained when the transfer was carried out in the x-cell module without cooling (see below). Evaluation of the retention capacity of 0.2 μm nitro-cellulose membranes was carried out using molecular weight standards (Rainbow™, Amersham) and by the analysis of the linearity of standard curves.

Quenching and detection of the IGFs: After transfer, the membranes were dried at room temperature and soaked at 4 °C for 1 h in 10 mM Tris, 0.15 M NaCl, 0.5% BSA, 0.2% Tween 20 with gentle agitation. Ligand incubation was performed in 1.5 ml of 10 mM Tris, 0.15 M NaCl, 0.5% BSA (1 mg/ml) containing a mixture of ^{125}I -IGF-I and ^{125}I -IGF-II (200,000 cpm each) in plastic bags at room temperature in flat position. Initial incubation with the ligand was carried out for 48 h at 4 °C but later, overnight incubation at room temperature was adopted (Lindgren, pers. comm.). Optimised incubations were performed by adding 1 mM EDTA to the quenching and ligand mixtures. After the washing steps, the membranes were dried at room temperature and exposed to Hyperfilm (ECL Amersham, Sweden). Because the IGFs are present in plasma in varying concentrations, the membranes were sometimes exposed to the film for short periods (1-2 days) and then re-exposed to a new film for longer periods (2-7 days). This approach allowed us to perform relative determinations of the different IGFs over a wide range of concentrations.

Evaluation of results: Film spots were scanned in one dimension (Millipore Corporation Imaging System, Eisenhower Parkway, Suite Arbor, MI, USA) defining band boundaries either automatically or manually. The integrated optical density (IODs) values of each band in their respective track were then compared and intra-assay variation calculated (% CV). Attempts to compare directly the IODs among gels (inter-assay variation) were not possible due to the inherent variation of the IOD values on gels run the same day. It also depended on the exposure times needed to obtain good signals.

RESULTS

Sample preparation: The main interest of this work was to evaluate the reliability of the WLB method with the aim to make simultaneous relative estimations of the IGFs content in serum or plasma. The study of the reproductibility capabilities of the technique was performed emphasising on the principal sources of error, particularly those derived from employing very small sample volumes. Commonly 1:10 - 1:15 dilutions (1.5 - 1.0 μl of serum) were optimal to detect the 39-42, 32, 28-30 and 24 kDa proteins and dilutions above 1:60 (0.25 μl) were usually undetectable, while below 1:10 tended to give a

plateau on the standard curves, probably due to saturation of the membranes at high protein concentrations (i.e. 39 to 42 kDa protein, IGF-3).

Separation pattern: In agreement with the known molecular weight of each IGF (10,11), the observed bands (Figure 1) after WLB were: 39 to 42, 32, 28 to 30 and 24 kDa which most probably correspond to IGF-3, IGF-2/IGF-1 and IGF-4. Each band exhibited slight different patterns among the species. The ~39-42 kDa (IGF-3) was the most abundant protein in all samples tested. In rat, it consisted of a triplet of bands, whereas both pig and human samples exhibited doublet. In rat samples, the second spot between ~28-30 kDa termed IGF-30 region most likely contain IGF-2 and -1 together with IGF-3 variants and not completely separated on 12% gels due to their similar molecular weights. Meanwhile, both pig and human samples, showed both IGF-2 and -1 as two separated bands with molecular masses of ~32 and ~28-30 kDa, respectively. Finally, the third band migrated with a molecular weight of ~24 kDa and most probably corresponds to IGF-4. Each band was specific for the ligands as both, cold IGF-II were able to displace them (data not shown). In addition their concentrations seemed to change in each species as could be seen from the band intensities.

Electrophoresis: The autoradiographic pattern of rat, pig and human serum IGFs (Figure 1) showed that a good protein separation is obtained on 12%, 1 mm gels (see Materials and Methods), whereas with 1.5 mm gels, no further improvement in separation was obtained.

Transfer membranes: The evaluation of retention capacity of 0.2 and 0.45 μm nitro-cellulose membranes suggested that 0.2 μm membranes better retained the proteins as judged by the higher IOD values obtained. High linearity was achieved as deduced from the coefficients of correlation r^2 ~0.939 to 0.993 (for pig) IGFs and ~0.99 (for rat) IGFs (Figure 2) after 2-4 days of exposure. This suggests a quantitative relationship between the amount of each protein on the nitro-cellulose and the densitometric response. Notwithstanding, 0.2 μm membranes possess a retention capacity limit which tend to deviate the IOD response when exceeded.

Quenching conditions and incubation with tracer: Quenching conditions including pre-treatment of dry membranes with 0.5% BSA, and 0.2% Tween 20 during 1 h at 4 °C (Lalou, pers. comm.) resulted in good signal with low background, which were improved when 1 mM EDTA was included in both the quenching and the ligand solutions. Improved results may probably be associated with inhibition of proteolysis either of the IGFs or the ligand itself. An additional improvement in the spots was further achieved when freshly purified ^{125}I -IGF-II was utilized before incubation. This allowed shorter exposure times with sharper bands and lower backgrounds after periods of exposure as long as 3 to 7 days. Shorter exposition times were remarkable

useful with the 39 to 42 kDa area which could be detected and scanned after periods not longer than 24 h. Other IGFbps had to be exposed for longer times due to their lower signal intensities (lower serum concentration).

Evaluation of results: The reproducibility of the WLB method was tested running pig and rat serum samples (Tables 1 and 2). Table 1 shows that when running pig serum the intra-assay variation in the doublet (42 and 39 kDa) was not notoriously influenced by either automatic or manual procedures during band definition (from 12% to 8% for the 42 kDa band or from 12% to 14% for the 39 kDa respectively). However, the variation of both 32 and 28-30 kDa proteins (probably IGFBP-2 and -1) could be reduced from 31% to 21% and from 21% to 15% respectively, using the manual procedure. Since the variation still appeared high, the possibility of protein damage due to excessive heat generation during the transfer process could not be discarded. To exclude this possibility, the transfer was carried out in an apparatus which included a cooling system. The results (Table 2) indicated that the transfer under these conditions together with a manual procedure of band boundaries definition, reduced the variation from 16 to 12% for the 39 to 42 kDa area and from 25 to 13% for the IGFBP-30 region in rat serum samples. We had previously found these variations to be around 26% for both regions using a chamber without cooling system and the variations were reduced at some degree (to 16% for 39 to 42 kDa) by the manual procedure (data not shown).

TABLE 1

Reproducibility of the WLB method. Pig plasma samples in dilutions 1:15 were separated and transferred to 0.2 μ m nitro-cellulose membranes in a device without cooling system. The coefficient of variation (CV) of pig 42 and 39 kDa, 32 kDa and 28-30 kDa were calculated from band areas defined (a) automatically or (b) manually (see Materials and Methods). Autoradiography was carried out for 4-5 days. (n, number of wells taken into account)

Protein	CV ^a	n	CV ^b	n
IGFBP-3	13	9	11	9
(~42 kDa)	7	6	2	6
	16	9	11	9
mean	12		8	
IGFBP-3	9	9	18	9
(~39 kDa)	9	6	10	6
	19	9	14	9
mean	12		14	
IGFBP-2	23	9	17	9
(~32 kDa)	21	6	11	6
	48	9	32	9
mean	31		20	
IGFBP-1	9	9	17	9
(~30 kDa)	35	6	12	6
	18	9	15	9
mean	21		15	

TABLE 2

Reproducibility of the WLB method. Rat plasma samples in dilutions 1:10 were separated and transferred to 0.2 μ m nitro-cellulose membranes in a device with cooling system (a) or without it (b). The coefficients of variation (CV) of rat 39-42 kDa and IGFBP-30 region were calculated from band areas manually defined. Autoradiography was carried out for 5-6 days. (n, number of wells taken into account)

Protein	Intra-assay variation		Intra-assay variation	
	CV ^a	n	CV ^b	n
IGFBP-3	6	8		
(~39-42 kDa)	11	8	17	9
	16	10	13	10
	6	10	17	8
	22	10		
mean	12		16	
IGFBP-30	11	8		
REGION	16	8		
(~28-30 kDa)	20	10	18	9
	8	10	30	10
	7	10	16	8
mean	12		21	

DISCUSSION

The aim of this work was to further evaluate the WLB method, originally described by Hossenlopp et al (10) for the simultaneous analysis of the IGFbps in serum. We were particularly interested in finding ways to reduce the sources of variation in order to have a reliable technique.

To improve the reliability, some modifications of the method were introduced and validated. Examples of such modifications included sample volume and sample preparation, and the evaluation of both the pore size of nitro-cellulose membranes and their retention capacity. In addition, ligand binding specificity was studied by the use of both IGF-I and IGF-II tracers. Moreover, two transfer chambers, and two ways of definition of band boundaries during the scanning process were studied.

Sample preparation was designed in order to reduce the inherent errors of taking very low sample volumes since those could by themselves introduce variation into the results. The optimal sample dilution (1:10) (Figure 1) employed for the reproductibility assays, shows that both the 39 to 42 kDa area as well as, the IGFBP-30 region (rat) and the 32 and 28 to 30 kDa proteins (IGFBP-2 and -1 pig) were possible to analyse as early as 1-3 days after autoradiography when fresh and pure tracer was employed. In addition, after those days of exposure, the membranes did not appear saturated with the IGFbps, not even the 39 to 42 kDa proteins which are present in the highest concentrations. Therefore any determination carried out at this sample dilution will fall into the linear part of the curve.

FIGURE 1

Autoradiographic pattern of plasma IGFBPs by the WLB method. Seven microliters (lanes 1-5) or 1.5 μ l (lanes 6-10) of rat (R), pig (P), human serum (HS) and amniotic fluid (AF) were mixed with sample buffer in water (1:1) to a final volume of 15 μ l and separated onto 12% polyacrylamide gels as described under Materials and Methods. Transfer was performed on a device without cooling system to 0.2 μ m nitro-cellulose membranes. The molecular weight position of 39 to 42, 32, 30 and 24 kDa are marked. Autoradiography was carried out for 4 days.



The retention capacity of the two nitro-cellulose membranes (0.2 or 0.45 μ m) held together revealed that proteins present at higher concentrations (IGFBP-3) tended to saturate the inner membrane and IGFBPs were also detected on the outer membrane. Moreover, samples signals which seemed to be caused by the sandwich tightness around this area and were more evident when the transfer was performed on a device without cooling system. Therefore, it seemed as if at tight contact within the transfer sandwich mediated and facilitated the transfer of proteins. Despite that all these facts could be interpreted as losses, the standard curves for pig and rat serum IGFBPs showed linearity for each IGFBP tested (Figure 1). Hence it can be assumed that the losses were equally spread over the whole range of molecular weight of the tested proteins and proportional to the original protein amount. In this context, Grisson et al (7) have found by quantitative measurements by radioimmunoassay, linear losses of pure hIGFBP-1 across both 0.45 and 0.2 μ m membranes. In this study, only 5% of the total IGFBP-1 was found over a second outer 0.2 μ m membrane increasing to 21% when 0.45 μ m membranes were used. Both pore sizes trapped 94.7% of the proteins, respectively. In our work, 0.2 μ m membranes exhibited higher IODs with stronger and sharper bands in agreement with the notion (7) that, both the capacity as well as the retention of the proteins are improved by using this pore size.

In contrast to other authors (6,7) who have used an iodine-labeled IGF-I, a mixture of 125 I-labeled IGF-I and IGFF-II

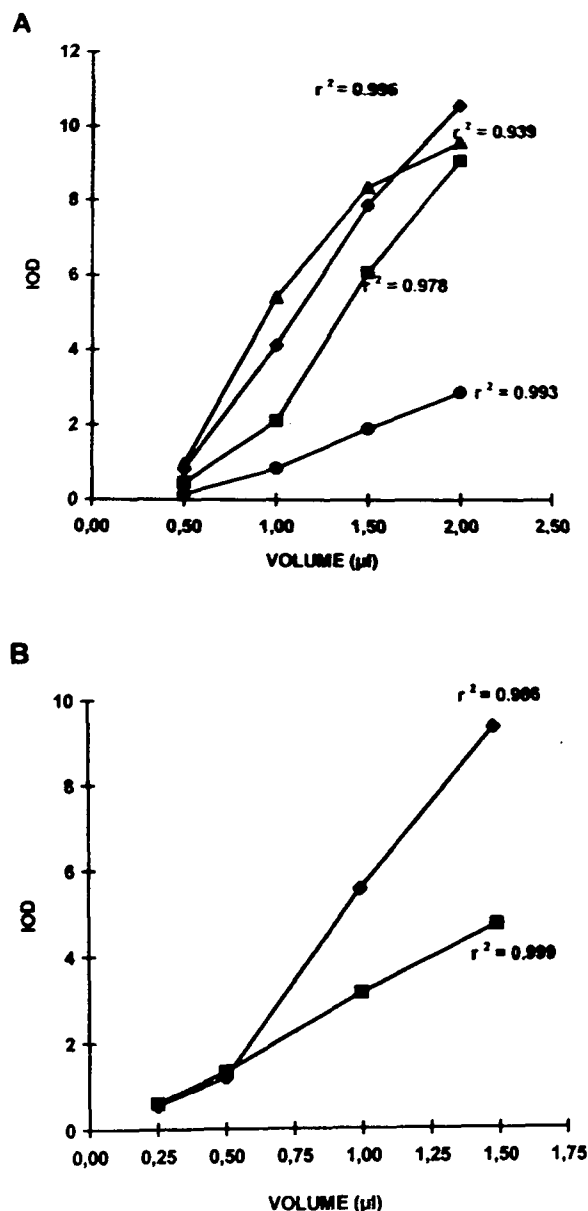
ligands was utilized in this work enhancing the final signal manifested as stronger and sharper bands. We consider that enhanced signals are achieved in response to the similar opportunity for each IGFBP to bind the ligand for which its affinity is higher (12-14). Thus, it is possible to obtain complexes with large stability and hence less probability of band density losses during the wash period.

Since the measurements of IGFBPs levels rely on their ability to bind IGFs, to test the specificity of the binding is of importance for the technique. Several data may support the IGFBPs integrity. First, both cold IGF-I and IGF-II were able to displace labeled ligands from the proteins when the protein specificity was tested. The ability to bind and/or displace either cold or labeled IGFs reveals that the IGFBPs binding capacity was retained after transfer and attachment to nitro-cellulose membranes. Increasing serum volumes showed the capacity to bind growing amounts of ligands. In addition, the results demonstrated that SDS treatment lead to the releasement of endogenous ligand. We however, do not know the extent of it. In this respect, Bisack (15) has claimed that SDS treatment is insufficient for the dissociation of large IGFBP molecular weight complexes therefore leading to underestimation of the total amount of IGFBP levels.

The IGFBPs separation pattern (Figure 2) showed the typical three/four main proteins present in serum (16,17). Our first approach was to measure each band within the 39 to 42 kDa rata triplet but it was a complex task due to their very similar electrophoretic mobility on 12% gels. Therefore determination of those bands was performed by determining the whole area (see below). Regarding the 32 and 28 to 30 kDa proteins (IGFBP-2 and -1) in rat samples, an additional complexity was found. The proteins could not be sufficiently separated on 12% gels or the concentrations were too low to be detected by WLB. Due to this pattern, the area was denominated IGFBP-30 region, where the two proteins could be present. Several aspects have to be kept in mind: first, some authors claim that IGFBP-2 could be absent in adult rat serum (18), however, in our lab it has been detected by immunoblot and moreover both IGFBP-2 and -1, exhibited a doublet of bands (data not shown). Second, in the rat the IGFBP-30 region contains IGFBP-2 and -1, and in addition it has been reported to exhibit 30 kDa fragments of IGFBP-3 (19) which still are able to bind IGFs although with lower affinity (20). These proteins could be present in different amounts (21), furthermore, multiple IGFBPs variants differing in isoelectric points, have recently been reported by two-dimensional gel electrophoresis (22), which altogether give more complexity to this region.

FIGURE 2

Standar curves for WLB analysis of pig IGFbps (A: \diamond 42 kDa; \square 39 kDa; Δ 32 kDa and \circ 28-30 kDa) and rat (B: \diamond 39-42 kDa (triplet) and \square IGFBP-30 region). Plasma samples ranging from 0.5 to 2.0 μ l (pig) were applied to 12% SDS-PAGE gels diluted in sample buffer to a final volume of 15 μ l (A) or in dilutions from 1:10 to 1:150 (B) as describe under Materials and Methods. A typical analysis using a mixture of labeled IGF-I and IGF-II is shown. The autoradiography was performed for 3-4 days. Coefficients of correlation (r^2) are indicated for each protein.



The reproducibility of the WLB method showed that the highest variability was found with samples applied to the gel edges. Moreover two gels which were run on the same day

under equal conditions, frequently tended to show different IOD values, which largely depended on the transfer process. Intra-assay variation indicated that the transfer as well as the way the bands are defined and/or integrated may have a large impact on the results. Thus, we reached CVs values for rat 39 to 42 kDa (IGFBP-3) and IGFBP-30, of 12 and 13% respectively when these two parameters were optimized. Assay reproducibility has continuously been checked in our lab running rat samples and CVs of 5.8% for 39 to 42 kDa (IGFBP-3) and 9.6% for IGFBP-30 were found. It means that CVs below 10% could be attainable when all the previously discussed parameters are carefully controlled.

Although the quantitative capabilities of the WLB method have previously been studied by Grisson et al (7) using hIGFBP-1, our approach will allow the simultaneous measurements of the main IGFbps in serum samples. This objective is attainable by running and comparing fixed samples volumes with a control sample that has been run on a gel as many times as possible. Running a sample several times on the gel will give a measurement of the assay reproducibility which is the key to make the assay valid.

In summary, this work has shown that with carefully controlled parameters like sample preparation, protein transfer and integration of areas, the Western Ligand Blot method may be a good and precise analytical technique for the simultaneous relative estimations of plasma 39 to 42, 32 and 28 to 30 kDa proteins (e.i IGFBP-3, -2 and -1) and therefore, changes in the serum pattern could be analysed in a direct and reliable way.

ACKNOWLEDGMENTS

MS-G is grateful to the International Program in the Chemical Sciences (IPICS), Uppsala University, Uppsala, Sweden for the financial support to the project COL:01 and for the fellowship granted to MTO. The authors thank B. Lindgren, M. Zmudka and M. Binoux for helpful discussions.

REFERENCES

1. Shimasaki S & Ling N. Identification and molecular characterization of insulin-like growth factor binding proteins (IGFBP) -1, -2, -3, -4, -5 and -6. *Progress in Growth Factor Research* 1991; 3:2243-266.
2. Cohick WS & Clemmons DR. The insulin-like growth factors. *Ann Rev Physiol* 1993; 55:131-153.
3. Thissen JP, Underwood LE, Maiter DM, Maes M, Clemmons DR, Ketelslegers JM and Froesch E. Recombinant insulin-like growth factor I induces its own specific carrier protein in hypophysectomized and diabetic rats. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86:3813-3817.
4. Straus DS & Takemoto CD. Effect of protein dietary deprivation on insulin-like growth factor (IGF) I and II, IGF binding protein-2 and serum albumin gene expression in rat. *Endocrinology* 1990; 127:1849-1869.
5. Straus DS, Burke EJ & Marten NW. Induction of insulin-like

- growth factor binding protein-1 gene expression in liver of protein restricted rats and in rat hepatoma cells limited for a single amino-acid. *Endocrinology* 1993; 132:1090-1100.
6. Hossenlopp P, Seurin D, Segovia-Quinson B, Hordouin S & Binoux M. Analysis of serum insulin-like growth factor binding proteins using Western Blotting: Use of the method for titration of the binding proteins and competitive binding studies. *Anal Biochem* 1986; 154:138-143.
 7. Grisson F, Rivero-Crespo F, Lindgren B & Hall K. Ligand blot analysis: Validation of quantitative capabilities and utilization for measurements of truncated insulin-like growth factor regulation of Hep-G2 insulin-like growth factor binding protein-1 production. *Anal Biochem* 1993; 212:412-4120.
 8. Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of the bacteriophage T4. *Nature* 1970; 227:680-685.
 9. Karonen SL, Morsky P, Siren M & Senderling U. Enzymatic solid-phase method for trace chloramide 1,3,4,6-tetrachloro-3a,6a-diphenylglycoluril. *Biochem Biophys Res Commun* 1975; 80:849-857.
 10. Jones JJ & Clemmons DR. Insulin-like growth factors and their binding proteins: biological actions. *Endocrine Rev* 1995; 16:3-34.
 11. Glasscock G, Gin K, Kim J, Hintz R and Rosenfeld R. Ontogeny of pituitary regulation in the developing rat: comparison of effects of hypophysectomy and hormone replacement on somatic and organ growth, serum insulin like growth factor-I (IGF-I) and IGF-II levels, and IGF binding proteins in the neonatal and juvenile rat. *Endocrinology* 1991; 128:1036-1047.
 12. Lord APD, Bastian SEP, Read LC, Walton PE and Ballard FJ. Differences in the association of insulin-like growth factor -1 (IGF-1) and IGF-I variants with rat, sheep, pig, human and chicken plasma-binding proteins. *J Endocrinol* 1994; 140, 475-482.
 13. Clemmons D, Dehoff M, Busby W, Bayne M & Cascieri M. Competition for binding to insulin-like growth factor (IGF) binding protein -2, -3, -4 and -5 by the IGFs analogues. *Endocrinology* 1992; 131, 890-895.
 14. Forbes B, Sxabo L, Baxter R & Ballard FJ. Classification of the insulin-like growth factor binding proteins into three distinct categories according to their binding specificities. *Biochem Biophys Res Comm* 1988; 157, 196-202.
 15. Biscsak T, Nakatani A, Shimonaka M, Salkowski M and Ling N. Insulin-like growth factor binding protein measurement: Sodium dodecyl sulfate-stable complexes with insulin-like growth factor in serum prevent accurate assessment of total binding protein content by ligand blotting. *Anal Biochem* 1990; 191:75-79.
 16. McCusker R, Campion D, Jones K & Clemmons DR. The insulin-like growth factor binding proteins of porcine serum: Endocrine and nutritional regulation. *Endocrinology* 1989; 125:501-509.
 17. Clemmons DR, Thissen JP, Maes M, Ketelsleger JM & Underwood L.E. Insulin-like growth factor-1 (IGF-I) infusion into hypophysectomized or protein-deprived rats induces specific IGF-binding proteins in serum. *Endocrinology* 1989; 125:2967-2972.
 18. Donovan SM, Oh Y, Pham H & Rosenfeld RG. Ontogeny of the insulin-like growth factor binding proteins in the rat. *Endocrinology* 1989; 125:2621-2627.
 19. Zapf J, Hauri C, Waldvogel M, Futo E, Hasle H, Binz K, Guler HP, Schmid C & Froesch ER. Recombinant human insulin-like growth factor I induces its own specific carrier protein in hypophysectomized and diabetic rats. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86:3813-3817.
 20. Lasarre C, Laou C, Perin L & Binoux M. Protease-induced alteration of insulin-like growth factor binding protein-3 as detected by radioimmunoassay. Agreement with ligand blotting data. *Growth Regulat* 1994; 4:48-55.
 21. Unterman T, Simmons R, Glick R & Ogata E. Circulating levels of insulin, insulin-like growth factor I (IGF-I), IGF-II and IGF-binding proteins in the small for gestational age fetal rat. *Endocrinology* 1993; 132:327-336.
 22. Chang k & Nicoll Ch. Characterization of rat serum insulin-like growth factor-binding proteins by two dimensional gel electrophoresis: identification of a potentially novel form. *Endocrinology* 1994; 134:2574-2580.

Recibido: 09-09-1996

Aceptado: 18-07-1997

Duración de la vida en ratas desnutridas, utilizando dieta básica del nordeste brasileño

Eunice Salzano Lago, Naíde Regueira Teodósio, Débora Catarine N. de Pontes Pessoa, Joé Eulálio Cabral Filho

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

RESUMEN. Se evaluaron los efectos de una dieta básica del Nordeste brasileño (DBR) sobre el crecimiento y la duración de la vida en 23 ratas Sprague Dawley cuyas madres recibieron la referida dieta desde la fertilización, comparadas con 20 animales provenientes de madres que recibieron dieta balanceada de caseína (22% de proteína). Al destete los animales continuaron recibiendo la dieta materna, siendo observados diariamente y pesados semanalmente hasta ocurrir la muerte. La curva ponderal de los animales machos, que recibieron la DBR no se diferencia de la de las hembras. En ellos no fueron definidos los momentos críticos de aceleración y desaceleración del crecimiento. Hubo reducción de la supervivencia de los animales con DBR, hasta a los 75 días de edad, estabilidad entre 75 y 450 días y a seguir muertes sucesivas hasta los 589 días de edad. Los controles sobrevivieron hasta los 860 días de edad. Estos resultados permiten admitir que la deficiencia crónica de la DBR es determinante sobre el crecimiento y la longevidad, y llevan a la necesidad de corregir el patrón alimentario básico de la población del Nordeste brasileño, objetivando entre otros aspectos, evitar una baja esperanza de vida. Palabras clave: longevidad, curva ponderal, supervivencia, mortalidad.

SUMMARY. Life span of malnourished rats fed the Regional Basic Diet (RBD) of Northeast of Brazil. The effects of a Regional Basic Diet (RBD) on life expectancy and growth were studied in 23 Sprague-Dawley rats from mothers fed RBD since fecundation. These animals were compared with 20 rats from mothers fed the balanced control diet (22% protein). At weaning, the animals were fed their mothers diet and the weight was recorded every week until death. Sex related differences were not detected among RBD-fed animals; the growth curve was similar for both sexes. The critical points of acceleration and deceleration of the growth rate were not defined for these rats. Survival for RBD-groups decreased until 75 d of age and was unchanged between 75 and 450 d of life. From the 459 th d to the 589 th d of life deaths occurred successively. Controls survived until the 860 th d of life. Data point out the need for improving the basic food pattern of the region to prevent, among other things, a low life expectancy for the northeastern population. Key words: longevity, weight curves, survival, mortality.

INTRODUCCION

Los efectos de la restricción alimenticia en la duración de la vida son evidenciados en bases experimentales y revelan muchas veces que el déficit alimentar produce disminución de el crecimiento, aún cuando puede incrementar la longevidad. Estos efectos son bastante diferentes dependiendo de el periodo de vida en el cual comienza la restricción, con su nivel o con los nutrientes involucrados en la misma.

Algunos autores consideran que la restricción dietética tiene efectos en la longevidad, que no dependen de sus efectos sobre el crecimiento (1). De acuerdo con Goodrik (2) la mayor duración del crecimiento resulta en aumento significativo de la esperanza de vida. Otros investigadores han encontrado evidencias de correlación entre el déficit dietético y la duración promedio de vida así como con la duración del ciclo vital (1,3,4,5,6,7,8,9). A través de estudios experimentales se ha demostrado que la restricción alimentaria tiene efecto significativo en el retardo de los procesos de envejecimiento (5,10) y en la progresión u ocurrencia de los principales procesos patológicos relacionados con la edad (8,9,11). Por otro lado

Morrison (12) ha relatado que la deficiencia en calorías, proteínas y nutrientes específicos, como la vitamina A, disminuye la supervivencia. Con relación a la influencia de la restricción proteica sobre la longevidad, los datos son contradictorios. Para unos autores la restricción disminuye la supervivencia (13) y otros han confirmado su influencia en el incremento de la longevidad, resaltando el efecto potencializador, en el caso de estar asociada a la restricción calórica.

El efecto de la restricción proteica ha sido menor (14) que el encontrado por Yu et al., (5) cuando la caseína es cambiada por proteína de soya, a el mismo nivel proteico (21%). En contraposición, los hallazgos realizados por Medular et al., (15) en trabajo conducido con ratas alimentadas durante 200 días, con distintas dietas proteicas, constataron un aumento de 24% en la esperanza de vida después de tratamiento con dieta de vegetales (8,8% de proteína).

Además, Gajjar et al., (16) demostraron en ratas, que la ingesta excesiva de proteína «ad libitum» (15-50% de proteína) no influye en la longevidad. Sin embargo, cuando asociada con restricción energética, se prolonga acentuadamente la vida de ratas auto-inmunes.

Murtagh et al., (17) evidenciaron que la fuente de carbohidrato dietético puede afectar el promedio de vida de ratas Fischer 344, independientemente de la restricción calórica. En animales que fueron alimentados «ad libitum» o con restricción de 60% de la ingesta «ad libitum» de una dieta isocalórica, con 14% de proteína, 10% de lípidos y 66% de sacarosa o almidón de maíz, el promedio, la mediana y el percentil 10 de supervivencia fueron significativamente más elevados en los animales «ad libitum» alimentados con almidón o sacarosa.

Con relación a la influencia de la restricción de grasas o de componentes minerales en la longevidad, distintamente de la restricción calórica, Iwasaki et al., (18) no encontraron correlación, pero Berdanier et al., (19) mostraron que la fuente y cantidad de grasas dietéticas pueden inducir cambios en los tejidos relacionados con la edad y la longevidad.

Orentreich et al., (20) observaron un incremento de 30% en el promedio de vida de ratas machos Fischer, en función de la restricción duradera en la concentración de L-metionina de la dieta, de 0,86 a 0,17%.

Con resultados experimentales ni siempre concordantes quizás hasta contradictorios, el problema queda sin respuesta definitiva, indicando la necesidad de continuar las investigaciones para elucidar las numerosas dudas y controversias.

En seres humanos, los conocimientos relacionados con el efecto de la restricción alimentaria en la esperanza de vida, son de importancia trascendental, especialmente en las regiones económica y socialmente carentes como el Nordeste de Brasil. Muchos factores contribuyen para tan baja esperanza de vida en esta Región, entre los cuales sobresalen las condiciones ambientales desfavorables, el bajo nivel de higiene, saneamiento, habitación, educación y deficiencia alimentaria, comprometiendo la salud y ocasionando elevados índices de mortalidad, especialmente en niños menores de cinco años (136/1000 nacidos vivos) (21).

En contribución al conocimiento de un tópico tan importante y controvertido, el presente trabajo pretende investigar la influencia de la Dieta Básica Regional (DBR) en la duración de vida de ratas Sprague Dawley, desde la fecundación hasta la muerte.

MATERIALES Y METODOS

Animales: Fueron estudiadas 43 ratas de ambos sexos, obtenidas de hembras Sprague Dawley de la Colonia del Departamento de Nutrición del Centro de Ciencias de la Salud de la Universidad Federal de Pernambuco.

Dietas: Dieta Básica Regional (DBR) - constituida de cuatro alimentos, el poroto (*Phaseolus vulgaris*), el camote dulce (*Ipomea batatas*), la harina de mandioca (*Manihot esculenta*) y la «charque» (carne bovina salada e prensada) que según encuestas de consumo realizadas por el sector de Nutrición en

Salud Pública del Departamento de Nutrición de la Universidad Federal de Pernambuco, revelaron componer la alimentación, base de las poblaciones de baja renta de una de las zonas fisiográficas del Estado de Pernambuco - 1a Zona de la «Mata-Sur».

El poroto, la carne de «charque» y el camote dulce fueron cocidos al estilo casero (en agua), los dos primeros durante dos horas e el camote dulce durante 30 minutos.

Fueron deshidratados a una temperatura de 60-70 °C en estufa (marca Fanem) con corriente de aire forzado durante un tiempo aproximado de 48-60 horas. En seguida fueron triturados en molino (marca Flour Grind Mill-Type D) y pasados en criba de 60 mesh.

La harina de mandioca es mezclada a los demás alimentos, manteniendo todos, la proporción comúnmente usada en la alimentación básica de la población (en g/100g): 18,34 de poroto; 12,76 de camote dulce y 3,7 de carne «charque».

Dieta control: caseína como fuente proteica para alcanzar un nivel de 22% de proteína y balanceada en cantidad y calidad por todos los principios nutritivos necesarios para la rata.

El contenido proteínico de las dietas fue calculado en base a la determinación del N por el método de Kjeldahl.

La composición de las dietas se muestra en la Tabla 1.

TABLA 1
Composición de las dietas experimentales
(g/100g)

Ingredientes	DBR ^c	Caseína
Poroto	8,34	-
Harina de mandioca	64,81	-
Charque ^a	3,74	-
Camote dulce	12,76	-
Grasa de la charque	0,35	-
Caseína comercial ^b	-	27,08
Grasa vegetal	-	7,50
Mezcla mineral	-	4,00
Mezcla de vitaminas hidrosolubles	-	1,00
Mezcla de vitaminas liposolubles	-	1,00
Celulosa	-	2,00
Almidón de maíz	-	57,42
Proteína, g/100	7,87	22,58
Kcal/100g	315,64	369,66

a = carne bovina salada y prensada.

b = 81,24 g/100g de proteínas.

c = Dieta básica del Nordeste brasileño.

Procedimiento

Las ratas fueron apareadas (3: 1), siendo diariamente realizado el examen de lavado vaginal. Una vez detectada la presencia de espermatozoides, las hembras fueron distribui-

das en dos grupos (grupo DBR, 9 hembras; grupo control, 6 hembras). Las ratas preñadas de los dos grupos fueron ubicadas en jaulas plásticas, individuales, y se mantuvieron a una temperatura ambiente de 23 °C y con una humedad de 65% con 13 horas de luz y 11 de obscuridad. Las nodrizas tuvieron libre acceso a la dieta asignada y agua de bebida.

Durante la preñez y lactancia fueron observadas diariamente, registrándose los datos en formulario específico determinándose el número y peso corporal de las crías.

Al destete (21 días de edad) los animales fueron trasladados a jaulas metálicas individuales, recibiendo la misma dieta materna «ad libitum» (grupo DBR, 23 animales; grupo Control, 20 animales).

Además de la observación diaria, los animales fueron pesados semanalmente hasta su muerte.

Las posibles diferencias entre los grupos fueron detectadas por el test «t» de Student, con 5% de confianza. El percentual de casos de muertes por el test X².

RESULTADOS

En el grupo DBR el peso al nacer (5,2 g) fue significativamente más bajo que el del grupo control (6,0 g). Las hembras DBR llevaron a término el amamantamiento de 76% de la prole que presentó un déficit ponderal de 64% al destete (grupo DBR 20,1g; grupo Control 55,0 g). Durante el período de amamantamiento el número de óbitos fué de 24% de los nacidos vivos, por efecto de canibalismo materno o muerte por inanición como consecuencia de la escasez o ausencia de leche materna.

Con la evolución de la edad se acentuó la inferioridad del crecimiento en relación al grupo control. A partir del destete, la curva ponderal reveló que, contrariamente al control y a lo que ocurre en el linaje Sprague Dawley, los machos no se diferenciaron de las hembras. Los momentos críticos de aceleración y desaceleración de la tasa de crecimiento no fueron definidos en los animales DBR (Figura 1).

Examinando etapas del ciclo vital a partir del destete (Figura 2), se observó que el porcentaje de muertes hasta la edad adulta (120 días) fue 39% en el grupo DBR y 5% en el Control. Con un año de vida murió 43% del grupo DBR y 15% del control. Todos los animales del grupo DBR murieron en un año y ocho meses, mientras que los del control en 2 años y cinco meses.

La curva de supervivencia de los DBR muestra una mayor velocidad en la mortalidad desde el destete hasta los 75 días de edad, estabilidad entre los 75 y 450 días, culminando como un declínio biológico evidenciado por el número sucesivo de muertes hasta los 589 días. En los controles este periodo de declínio, aunque también iniciado a los 450 días, se prolongó hasta los 860 días de edad (Figura 3).

La observación sistemática cotidiana de los animales no registró cualquier anomalía o señal propia de enfermedades.

FIGURA 1
Curva ponderal de ratas sometidas a los efectos de la DBR, desde la fecundación, comparadas a ratas control (dieta balanceada con 22% de caseína)
N= Número de óbitos

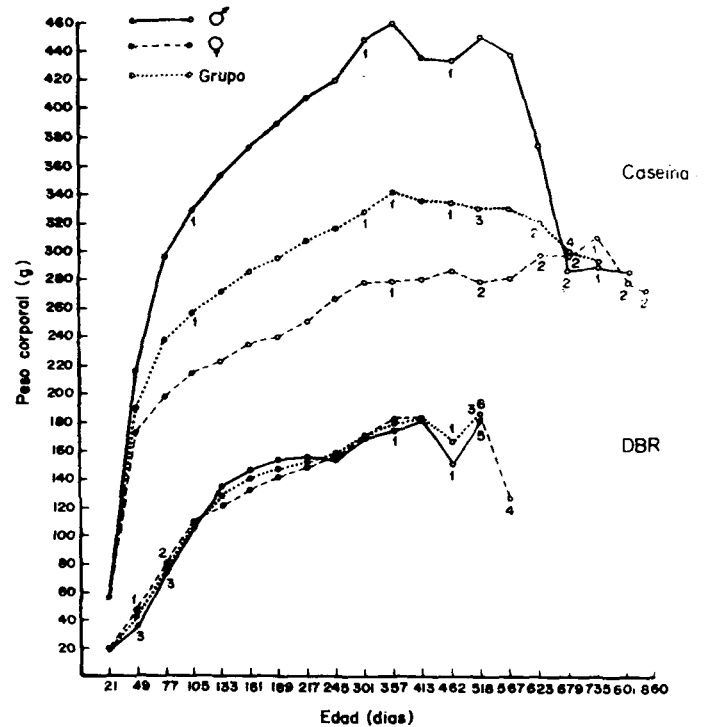


FIGURA 2
Porcentaje de muertes de ratas crónicamente desnutridas por DBR y Control en diferentes límites etarios
* Diferencia significativa (Test x²)

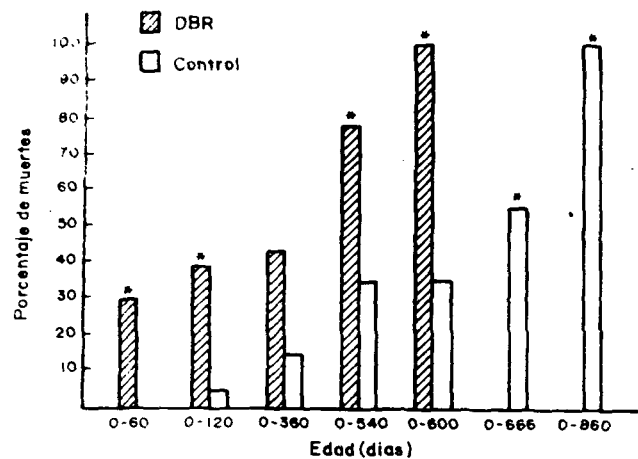
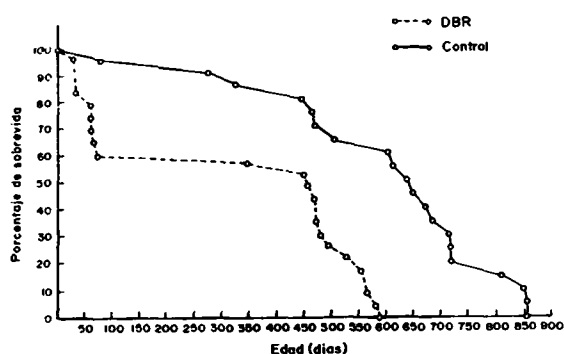


FIGURA 3

Porcentaje de sobrevivida en períodos de 50 días de ratas Sprague Dawley crónicamente desnutridas por dieta DBR, comparados el grupo control (dieta caseína de 22% de proteína)



DISCUSION

Los resultados obtenidos en los animales desnutridos sometidos al tratamiento DBR permiten admitir que la deficiencia dietética provocada por la DBR utilizada por toda la vida, determina un impacto sobre la curva ponderal y la duración de vida.

Los recién nacidos de este tratamiento pesaron menos que el control. Los datos de la literatura son controvertidos en cuanto a la repercusión de la desnutrición de las embarazadas sobre el peso de la prole al nacer. Algunos autores (22,23), encontraron en la prole de gestantes que recibieron dieta balanceada y con 8% de caseína, peso al nacer semejante al de los controles. Sin embargo, Stewart y Sheppard (24), empleando un modelo dietético deficiente en proteínas y balanceado en los demás nutrientes, encontraron bajo peso al nacer.

La mortalidad durante el periodo de amamantamiento alcanzó 24% de los lactantes. Este porcentaje fue semejante al encontrado por Tonete et al., (25) y mayor que el de la mortalidad perinatal referida por Turner (23).

La curva ponderal (del destete a la muerte) muestra un evidente desequilibrio de la etapa del «catch-up» de las diferencias entre los sexos, similarmente constatado por Stewart y Sheppard (24), en el pos-destete de ratas desnutridas. Hubo ausencia de definición de los momentos críticos de aceleración y desaceleración del crecimiento.

La corta duración de vida (61% desde el nacimiento hasta los 75 días de edad) en las ratas desnutridas (grupo DBR), así como, la longevidad que no sobrepasó los 580 días de edad, indican que dietas humanas desbalanceadas y deficitarias, además de sus innumerables agresiones sobre el organismo, pueden ser consideradas factor de riesgo de muerte.

Por otro lado, examinando las dietas artificiales empleadas en la mayoría de los trabajos, debe considerarse que no

reproducen las condiciones del régimen alimentario de las poblaciones de baja renta.

Además, diferentes autores inician el esquema experimental (6,18,19,26), después del destete, quedando de tal manera omitido el período mas vulnerable a las agresiones externas, incluyendo la deficiencia alimentaria, situación esta, que repercute de manera irreversible en algunos aspectos del crecimiento y Además de esto, el cuestionamiento no se limita a la restricción alimentar «per se», el involucra la relación entre proteínas versus carbohidratos de la dieta. Ross (27) refiere la capacidad de la rata en restringir la cuota ingerida de dieta pobre en proteína y rica en carbohidratos, llevando a una baja ingesta calórica total, lo que determina mayor sobrevivida.

Confrontando la curva ponderal con el número de muertes se verifica que entre los 80 y 350 días de edad (etapa de tasa de crecimiento más lento), no se registraron muertes, sin embargo a partir de los 350 días, los animales del grupo DBR entraron en la fase crítica de declinio biológico, que culmina rápidamente con 100% de mortalidad a los 589 días de edad.

Una agresión nutricional de esta magnitud corresponde a un «stress» que es más intenso cuando se aumenta el tiempo de administración de la dieta. Así, es posible que la estabilización de órbitos durante un cierto período, seguido de una fase crítica de declinio biológico, esté caracterizando las fases de resistencia y extenuación que se observan en el «stress» crónico (28,29).

La muerte prematura ocurrida en 39% de los animales del grupo DBR hasta los 120 días de edad, es similar a la observada por Orr et al., (30) quienes investigaron el efecto de una dieta de trabajadores sobre la longevidad, teniendo como control la misma dieta suplementada con leche y vegetales verdes. Estudiaron cuatro generaciones de ratas, cada una hasta los 140 días de edad, constatando que, en esa edad apenas 45% del grupo no suplementado sobrevivió, mientras que en el grupo suplementado, la sobrevivida fue de 90%. Hubo una mayor tasa de nacidos muertos y una tasa de mortalidad levemente mayor entre el nacimiento y el destete en el grupo experimental, pero la mayor parte de la diferencia en la sobrevivida se presentó en el período entre los 42 y 140 días.

Es válido resaltar que esta semejanza de resultados está asociada a modelos experimentales elaborados con criterios idénticos de transposición de condiciones alimentarias de la vida humana para modelos experimentales en el laboratorio. (31)

Los presentes resultados con dieta básica regional del Nordeste brasileño revelando una curva de crecimiento desfigurada y una corta duración de vida indican la necesidad de corregir el patrón alimentario de la población, objetivando, entre otros aspectos, evitar una baja esperanza de vida.

REFERENCIAS

1. Beauchene RE, Bales CW, Bragg SS, Hawkins T & Mason, RL. Effect of age of initiation of feed restriction on growth,

- body composition, and longevity of rats. *J Gerontol* 1986; 41:13-19.
2. Goodrick CL. Body weight increment and length of life: the effect of genetic constitution and dietary protein. *J Gerontol* 1978; 33:184-190.
 3. Young VR. Diet as a modulator of aging and longevity. *Fed. Proc* 1979; 38:1994-2000.
 4. Yu BP, Masoro EJ, Murata I, Bertrand HA & Lynd FT. Life span study of SPF fischer 344 male rats fed ad libitum or restricted diets: longevity, growth, lean body mass and disease. *J Gerontol* 1982; 37:130-141.
 5. Yu BP, Masoro EJ & McMahan CA. Nutritional influence of aging of Fischer 344 rats: I. Physical, metabolic, and longevity characteristics. *J Gerontol* 1985; 40: 657-670.
 6. Belda MCR, Lia RCC, Benatti Neto C & Mendes AJD. Desenvolvimento e duração da vida em relação a restrição alimentar imposta a ratos de laboratorio. *Aliment Nutr* 1989; 1:47-60.
 7. Thurman JD, Bucci TJ, Hart RW & Turturro A. Survival, body weight, and spontaneous neoplasms in ad libitum - fed and food-restricted Fischer-344 rats. *Toxicol Pathol.* 1994; 22:1-9.
 8. Blackwell BN, Bucci TJ, Hart RW & Turturro A. Longevity, body weight, and neoplasia in ad libitum fed and diet restricted C57BL6 mice fed NIH-31 open formula diet. *Toxicol Pathol* 1995; 23:570-572.
 9. Sheldon WG, Bucci TJ, Hart RW & Turturro A. Age related neoplasia in a life time study of ad libitum fed and food restricted B6C3F1 mice. *Toxicol Pathol* 1995; 23: 458-476.
 10. Masoro EJ. Nutrition and aging - a current assessment. *J Nutr* 1985; 115:842-845.
 11. Maeda H, Gleiser CA, Masoro EJ, Murata I, McMahan CA & Yu BP. Nutritional influences on aging of Fischer 344 rats: II. Pathology. *J Gerontol* 1985; 40:671-688.
 12. Morrison SD. Nutrition and longevity. *Nutr Rev* 1983; 41:133-142.
 13. Davis TA, Bales CW & Beauchene RE. Differential effects of dietary caloric and protein restriction in the aging rat. *Exp Gerontol* 1983; 18:427-435.
 14. Iwasaki HK, Gleiser CA, Masoro EJ, McMahan CA, Seo EJ & Yu BP. The influence of dietary protein source on longevity and age-related disease processes of Fischer rats. *J Gerontol Biol Sci* 1988; 43:B5-12.
 15. Medlar BJ, Petzke KJ, Semesko TG, Albrecht V & Grigorov J. The effect of different protein diets on longevity and various biochemical parameters of aged rats. *Nahrung* 1991; 35:961-967.
 16. Gajjar A, Kubo C, Johnson BC & Good RA. Influence of extremes of protein and energy intake on survival of B/W mice. *J Nutr* 1987; 117:1136-1140.
 17. Murtagh MCM, Reiser KM, Harris R Jr & McDonald RB. Source of dietary carbohydrate affects life span of Fischer 344 rats independent of caloric restriction. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 1995; 50:B148-154.
 18. Iwasaki K, Gleiser CA, Masoro EJ, McMahan CA, Seo EJ & Yu BP. Influence of the restriction of individual dietary components on longevity and age-related disease of Fischer rats: the fat component and the mineral component. *J Gerontol Biol Sci* 1988; 43:B13-21.
 19. Berdanier CD, Johnson B, Hartle DK & Crowell W. Life span is shortened in BHE/cdb rats fed a diet containing 9% menhaden oil and 1% corn oil. *J Nutr* 1992; 122:1309-1317.
 20. Orentreich N, Matias JR, Defelice A & Zimmerman JA. Low methionine ingestion by rats extends life span. *J Nutr* 1993; 123:269-274.
 21. Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Crianças e adolescentes: indicadores sociais. L: 25, 1987.
 22. Resnick, O. & Morgane, P.J. Animal models for small for gestational age (SG) neonates and infants at risk (IAR). *Develop Brain Res* 1983; 10:221-225.
 23. Turner MR. Perinatal mortality growth and survival to weaning in offspring of rats reared on diets moderately deficient in protein. *Brit J Nutr* 1973; 29:139-147.
 24. Stewart RJC & Sheppard HG. Protein calorie deficiency in rats; growth and reproduction. *Brit J Nutr* 1971; 25:175-280.
 25. Tonete SSQ, Nóbrega FJ, Sartori MEA, Trindade CEP, Lopez FA & Curi PR. Desnutrição intrauterina em ratos: II. Estudo do peso e mortalidade de produto da concepção. *Arch Latinoamer Nutr* 1983; 33:109-125.
 26. Weindruch R, Gottesman SRS & Walford RL. Modification of age-related immune decline in mice dietarily restricted from on after midadulthood. *Proc Natl Acad Sci USA* 1982; 79:898-902.
 27. Ross MH. Length of life and nutrition in the rat. *J Nutr* 1961; 76:197-210.
 28. Selye H. The evaluation of the stress concept. *Amer Scient* 1973; 61:692-699.
 29. Selye H. Stress and the heart: introduction. *Stress and the heart.* In: Wheatley, D In: New York, Raven, 1981. p. 1-11.
 30. Orr JB, Thomson W & Garry RC. A long term experiment with rats on a human dietary. *J Hyg* 1935; 35:476-497.
 31. Teodósio NR, Lago ES, Romani SAM & Guedes RCA. A regional basic diet from Northeast Brazil as a dietary model of experimental malnutrition. *Arch Latinoamer Nutr* 1990; 40: 533-546.

Recibido: 08-10-1996

Aceptado: 21-07-1997

Propiedades funcionales de la proteína de cují (*Prosopis juliflora*)

Ingrid Holmquist-Donquis¹ y Gleywer Ruíz de Rey²

Centro de Investigaciones Tecnológicas, Universidad Nacional Experimental «Francisco de Miranda»,
Coro, Estado Falcón, Venezuela

RESUMEN. Se preparó un concentrado proteico a partir de la harina del fruto completo del cují (*P. juliflora*) para evaluar y caracterizar sus propiedades funcionales; índice de solubilidad y efecto del calor húmedo sobre la misma, capacidad de absorción de agua y acidez, capacidad espumante, estabilidad de la espuma, capacidad emulsificante, viscosidad de la emulsión y el efecto de la temperatura y el NaCl sobre algunas de estas propiedades, según procedimientos descritos en la literatura a objeto de determinar su potencial aplicación como ingrediente en alimentos y posible competitividad en el mercado como nueva fuente de proteína. El punto isoeléctrico del concentrado osciló en un rango de pH entre 4,00-4,50. La máxima solubilización se obtuvo a pH 10,00 en solución de NaCl 0,75 M y con tratamiento térmico a 112 °C por un período de 5 min. Bajo las condiciones estudiadas, los gramos de agua absorbidos y los gramos de aceite retenidos sugieren la utilización de la proteína de cují en alimentos donde ambas propiedades sean importantes para garantizar el «flavor» y/o textura del producto. La capacidad espumante, mayor a la de la albúmina de huevo bajo condiciones similares de pH, mostró una correlación positiva ($r=0.8435$ con un nivel de significación de $p=0.004$) con el índice de solubilidad, pero disminuyó en presencia de NaCl aún a bajas concentraciones, por lo que el uso de esta proteína por esta propiedad, dependerá del pH y fuerza iónica del producto a procesar.

Palabras Clave: Proteína vegetal, concentrado proteico, propiedades funcionales.

SUMMARY. Functional properties of mesquite bean protein (*Prosopis juliflora*). A protein concentrate was prepared from whole mesquite bean (*Prosopis juliflora*) to evaluate and characterize its functional properties; solubility index, effects of moist heat on its solubility, water sorption, fat absorption, foaming capability and foam stability, emulsifying capacity, viscosity and the effects of NaCl and temperature on some of these properties. These properties were evaluated by procedures used to determine its potential application as a food ingredient and its market potential as a new protein source. The protein isoelectric point ranged between pH 4,00-4,50. Maximum solubility was obtained at a pH 10,00 in a 0,75 M NaCl solution and under heat treatment at 112 °C for 5 min. Under the studied conditions the amount of water absorbed and the fat absorption capacity, strongly suggest the mesquite bean protein utilization in foods where both properties are important in order to enhance flavor retention and mouth-feel improvement. Although its foaming capability was larger than that of the egg albumin under similar pH conditions, the protein concentrate did not show a good stability, however, both properties could be improved. Emulsifying capacity as a pH function, showed a positive correlation ($r=0.8435$ with a significance level of $p=0.004$) with the solubility index but, decreased with NaCl even at low concentrations. For these reasons, the uses of mesquite bean protein for this property will be determined by the pH and ionic strength of the product to be processed.

Key words: Vegetable proteins, protein concentrate, functional properties.

INTRODUCCION

El cují (*P. juliflora*) ha sido ampliamente utilizado como combustible, material de construcción, carbón orgánico, con propósitos medicinales y como alimento de consumo animal(1), pero pocos son los estudios que reportan su incorporación en alimentos de consumo humano (1,2). Su utilización en productos alimenticios ha sido limitada a pesar de poseer

una proteína de calidad por su alto contenido en aminoácidos esenciales y una digestibilidad comparable a la de otras leguminosas (3,4,5,6); no haberse encontrado elementos o sustancias tóxicas en su composición (7) y a la experiencia existente en la industria de alimentos en el uso de otras proteínas procedentes de leguminosas (1). Las propiedades funcionales de su proteína no han sido evaluadas para implementar su uso por cualidades como capacidad espumante, capacidad de absorción de aceite y/o agua, capacidad emulsificante, viscosidad, etc., de gran utilidad en la industria de alimentos (8,9,10).

Desde un punto de vista tecnológico, las proteínas juegan un papel importante en la estructura y cualidades organolépticas de los alimentos, cuyas características se ven influenciadas

1. Profesora Titular del Area Ciencias de la Salud y del Centro de Investigaciones Tecnológicas (CITEC).
2. Asistente de Laboratorio de Investigaciones y Docencia del Centro de Investigaciones Tecnológicas (CITEC).

por las propiedades funcionales de las proteínas que ellos posean (11). Estas propiedades a su vez, varían según la fuente de la proteína, métodos de aislamiento, precipitación, secado, concentración y algunas condiciones ambientales como pH, temperatura y fuerza iónica. Por esta razón, al desarrollar una nueva fuente de proteína, un concentrado o aislado proteico, es necesaria la determinación sistemática de sus propiedades funcionales para determinar su campo de aplicación y posible competitividad en el mercado como lo demuestran trabajos realizados con diversas variedades de leguminosas y oleaginosas (12-19). Basados en estos antecedentes, se planteó como objetivo la preparación de un concentrado proteico a partir de la harina completa de *P. juliflora* para evaluar algunas de sus propiedades funcionales y establecer su posible utilización en la elaboración de alimentos de consumo humano.

MATERIALES Y METODOS

I. Preparación de la harina y el concentrado proteico

Los frutos de *P. juliflora* fueron recolectados en diferentes áreas de la ciudad de Coro, Estado Falcón, Venezuela, en pequeñas cestas de metal colocadas debajo de las ramas recolectándose sólo aquellas que caían dentro de las mismas. Los frutos fueron seleccionados, cortados en sus extremos, lavados, secados en estufa Memmert 854 (Schwabach.w + Germany) a 70 °C por 24 h y molidos en un molino de cuchilla Retsch (Restch ZM1, F Kurt Resch Gmb H & Co., Germany) con tamiz de 0,50 mm.

El concentrado fue preparado a partir de la harina del fruto completo según el procedimiento descrito por Guerra y Park (20) con algunas modificaciones. La harina (200 g) fue suspendida en agua destilada (1:10 p/v) y ajustada a pH 10,00 con NaOH 1,00 M por 20 min con agitación continua a temperatura ambiente. La suspensión fue colocada en reposo a 4 °C hasta obtener dos fases: una líquida (sobrenadante) conteniendo la proteína solubilizada y una sólida (residuo). Debido al tamaño de la muestra, el sobrenadante fue separado por decantación y acidificado a pH 4,00-4,50 con HCl 0,10 N. El residuo fue resuspendido nuevamente en agua destilada y colocado en reposo a 4 °C por 24 h hasta obtener precipitación de proteína en el sobrenadante. La proteína precipitada fue lavada con agua destilada, centrifugada a 8.000 rpm por 10 min en una centrífuga refrigerada Damon B-20A (International Equipment Co, Needham Heights, MA) y colocada en frascos de vidrio para su deshidratación en un liofilizador Labconco (Labconco Co, Kansas City, Mo, USA). La proteína deshidratada fue triturada en mortero hasta obtener partículas de 100 mesh.

La concentración de proteína, extracto de hexano, ceniza y humedad en la harina y el concentrado, fue determinada por triplicado y expresada en base seca según recomendaciones de la AOAC(2). Concentración de fibra dietética total, fibra soluble y fibra insoluble en la harina, según el método adap-

tado en el laboratorio de Análisis de Alimentos de la Universidad «Simón Bolívar, Caracas, Venezuela, de acuerdo a las referencias (22,23,24), con los reactivos α -amilasa termoestable Sigma N° A-3306, proteasa Sigma N° P-3913, Amiloglucosidasa Sigma N° A-9913 y Celite Sigma C-8556 (Sigma Chemical Co, St Louis MO, USA). Azúcares totales, azúcares reductores y sacarosa por el método de Lane y Eynon descrito por Lees (25).

II Propiedades Funcionales:

Índice de solubilidad: Se determinó en muestras de harina y concentrado según el procedimiento descrito por Sosulski et al (26). Suspensiones al 1,00 g/100 de la harina y el concentrado en solución acuosa, y suspensiones al 1,00 g/100 del concentrado en soluciones de NaCl 0,10; 0,25; 0,50; 0,75 y 1,00 M, fueron divididas en alícuotas de igual volumen (10 ml) y ajustadas a valores de pH entre 2-10 con NaOH o HCl 0,10 N por 10 min con agitación continua a temperatura ambiente. Las alícuotas fueron colocadas en reposo a 4 °C por 30 min y centrifugadas a 4.500 rpm por 30 min a temperatura ambiente. Los sobrenadantes fueron decantados, filtrados a través de papel de filtro Whatman N° 1 y la concentración de proteína solubilizada en cada uno de ellos fue determinada por el método Lowry et al (27) con un espectrofotómetro de absorción UV- visible Cam-Spec M330 (Cam Spec LTD, Cambridge, England).

Las muestras control fueron preparadas con suspensiones de harina y concentrado al 1,00 g/100 en NaOH 1,00 M calentadas a 80 °C por 15 min, centrifugadas y filtradas al igual que las demás alícuotas. Los valores obtenidos para los controles fueron asumidos como el 100 g/100 de proteína presente y la concentración de proteína solubilizada en función del pH para ambas muestras fue expresada como porcentaje de los valores en el control.

Efecto del calor húmedo en la solubilidad: Para evaluar el efecto del calor sobre la estructura de la proteína y subsecuentemente en su solubilidad, muestras del concentrado fueron sometidas a calor con vapor a presión a 112 °C por 5, 15 y 30 min en un autoclave All American N° 25X (Wisconsin Aluminum Foundry Co Inc, USA). La solubilidad de la proteína en cada una de las muestras fue determinada según el procedimiento descrito por Sosulski et al (26), y la concentración de proteína solubilizada determinada por el método de Lowry et al (27).

Capacidad de absorción de agua: La capacidad de absorción de agua fue determinada según el procedimiento descrito por Salim (28). Suspensiones al 1,00 g/100 del concentrado en agua destilada a 25, 50 y 75 °C y ajustadas a pH 4,00; 6,00 y 8,00 con NaOH o HCl 0,10 N, fueron colocadas en reposo por 1 h en estufas Memmert 854 (Schwabach.w + Germany) calibradas a 25, 50 y 75 °C y centrifugadas a 6.000 rpm por 45 min. Decantado el sobrenadante, los tubos fueron inclinados en un ángulo de aproximadamente 15 °C con el plano horizontal por 20 min.

Los tubos más el precipitado húmedo fueron pesados, colocados en estufa a 105 °C por 16 h y pesados nuevamente. Los gramos de agua absorbidos fueron determinados por diferencia y los resultados expresados como g agua absorbida/g proteína. Los ensayos fueron realizados por triplicado y promediados.

Para evaluar el efecto del NaCl, suspensiones al 1,00 g/100 del concentrado en soluciones de NaCl 0,50; 0,75 y 1,00 M, ajustadas a pH 4,00; 6,00 y 8,00 con NaOH o HCl 0,10 N a temperatura ambiente, fueron colocadas en reposo por 1 h a 4 °C reajustándose el pH en caso necesario. Los g agua absorbida/g de proteína fueron determinados siguiendo el procedimiento descrito anteriormente.

Capacidad de absorción de aceite: Se evaluó según el método descrito por Dench et al (29). Muestras del concentrado (0,50 g) colocadas en tubos de centrifuga, fueron mezcladas con 3,0 ml de aceite de maíz (Mazeite, Remavenca, Venezuela) a 25, 50 y 75 °C y pesadas nuevamente (tubo + muestra + aceite). Los contenidos fueron agitados manualmente por 1 min, colocados en reposo por 1 h en estufas calibradas a 25, 50 y 75 °C y centrifugadas a 6.000 rpm por 45 min. Decantado el sobrenadante, los tubos fueron colocados a un ángulo de aproximadamente 15 °C con el plano horizontal por 20 min. Los tubos fueron pesados nuevamente y los gramos de aceite retenidos calculados por diferencia. Los tratamientos fueron realizados por triplicado, promediados y expresados como g de aceite retenido/g de proteína.

Para evaluar el efecto del NaCl, muestras del concentrado (0,50 g) fueron mezcladas con NaCl al 0,25; 0,50 y 1,00 g/100. La capacidad de absorción de aceite fue determinada según el procedimiento descrito anteriormente a temperatura ambiente.

Capacidad espumante y estabilidad de la espuma: Se determinó según el método descrito por Pérez y Saad (30) con albúmina de huevo (Ovalbumin) grado II (Sigma Chemical Co, St Louis Mo, USA) como referencia comparativa en suspensiones al 1,00 g/100 del concentrado en solución acuosa y soluciones de NaCl 0,50; 0,75 y 1,00 M ajustadas a pH 6,00 y 7,00 con NaOH o HCl 0,10 N. Los resultados fueron expresados como porcentaje del volumen de espuma formado tomando como 100% el volumen inicial de la suspensión. Para determinar la estabilidad de la espuma en el tiempo, el volumen de espuma fue medido en un cilindro graduado (250 ml) a diferentes intervalos de tiempo tomando como 100% el volumen de espuma en el tiempo 0 min.

Capacidad emulsificante: Se determinó según el método descrito por Swift et al (31) en suspensiones al 1,00 g/100 del concentrado en solución acuosa ajustadas a pH 2,00- 10,00 con NaOH o HCl 0,10 N, y en soluciones de NaCl 0,10; 0,25; 0,50; 0,75 y 1,00 M ajustadas a pH 6,00; 7,00 y 8,00. Los tratamientos fueron realizados por duplicado con aceite de maíz (Mazeite, Remavenca, Venezuela) coloreado con onoto (*Bixa orellana*) y expresados como ml de aceite emulsificado/g de proteína.

Viscosidad de la emulsión: Se evaluó en emulsiones preparadas a pH 6,00; 7,00 y 8,00 en solución acuosa finalizando la titulación al 90 ml/100 de la cantidad del aceite requerido para colapsar la emulsión. La viscosidad fue medida por duplicado en un Viscosímetro digital Brookfield DV-II+ (Brookfield Ingeniering Lab Inc, USA) a 23,9 °C con aguja Brookfield SPO2 (Brookfield Ingeniering Lab Inc, USA) a 50 rpm para las emulsiones preparadas a pH 6,00 y aguja Brookfield SP 03 (Brookfield Ingeniering Lab Inc, USA) a 100 rpm para las emulsiones preparadas a pH 7,00 y 8,00.

Análisis estadísticos: Se realizaron análisis de comparación de medias, específicamente prueba t-student, para muestras pareadas ($p \leq 0,05$) y el coeficiente de correlación de Pearson para determinar la relación entre las propiedades; índice de solubilidad y capacidad emulsificante de la proteína con el paquete estadístico SPSS para Windows versión 6.0.

RESULTADOS Y DISCUSION

Índice de solubilidad de la proteína: La Gráfica 1 muestra la curva de solubilidad de la proteína como una función del pH para el concentrado y la harina del fruto. En ambos casos, el perfil de las curvas en solución acuosa fue similar (forma de U) al reportado en la literatura para otras proteínas vegetales (12-16,18,19). El punto isoeléctrico osciló entre pH 4,00 - 4,50 y la máxima solubilización (68,81 g/100) a pH 10,00, valores similares a los reportados por Meyer et al (1) y Del Valle et al (3) para *P. juliflora*. La concentración de proteína solubilizada fue significativamente mayor para el concentrado que para la harina en ambos extremos del punto isoeléctrico (la comparación de media mediante la prueba t-student arrojó un valor de $t = 4,96$ con un nivel de significación $\alpha/2 = 0,001$). Esta diferencia pudo deberse a factores como la concentración inicial de proteína en las muestras y la presencia de otros ingredientes en la harina del fruto como fibra dietética (44,10 g/100), constituyente que puede interferir en la solubilización de la proteína a pH alcalino (Tabla 1). La concentración de proteína en el concentrado fue aproximadamente el doble (24,14 g/100) a la contenida en la harina (14,56 g/100) no obstante el bajo rendimiento obtenido en preparación del concentrado. Este bajo rendimiento se debió posiblemente a la sustitución del proceso de centrifugación después de la alcalinización de la suspensión a pH 10,00, por un período de reposo de 24 h y posterior decantación del sobrenadante para su acidificación a pH 4,00.

En el estudio de solubilidad de la proteína de *P. juliflora*, se obtuvieron concentraciones de proteína solubilizada inferiores a las reportadas para proteínas como la de soya y maní (*Arachis hypogaea L.*) (13,15,16), pero similares a las reportadas para otras especies vegetales como *Phaseolus vulgaris* (12), *Moringa peregrina* (13), *Tamarindus indica* (14), *Brassica campestris* (18) y dos variedades de semillas de melón *Cucumeropsis edulis* y *Colocynthis citrullus L* (19).

TABLA 1
Composición química de la harina y el concentrado
de *P. juliflora*

Componentes	Harina (g/100g)(a)	Concentrado (g/100g) (b)
Proteína cruda(c)	14,56±5,39	24,14
Extracto de hexano	3,20±0,63	9,19
Ceniza	4,22±0,20	4,46
Azúcares totales	15,47±2,18	7,73
Azúcares reductores	5,62	2,09
Sacarosa (d)	9,36±2,07	5,36
Fibra dietética total	44,10	—
Fibra insoluble	32,35	—
Fibra soluble	11,75	—

a: Promedio de siete lotes expresados en base seca

b: Base seca; variabilidad para las mismas determinaciones, ±1,5%

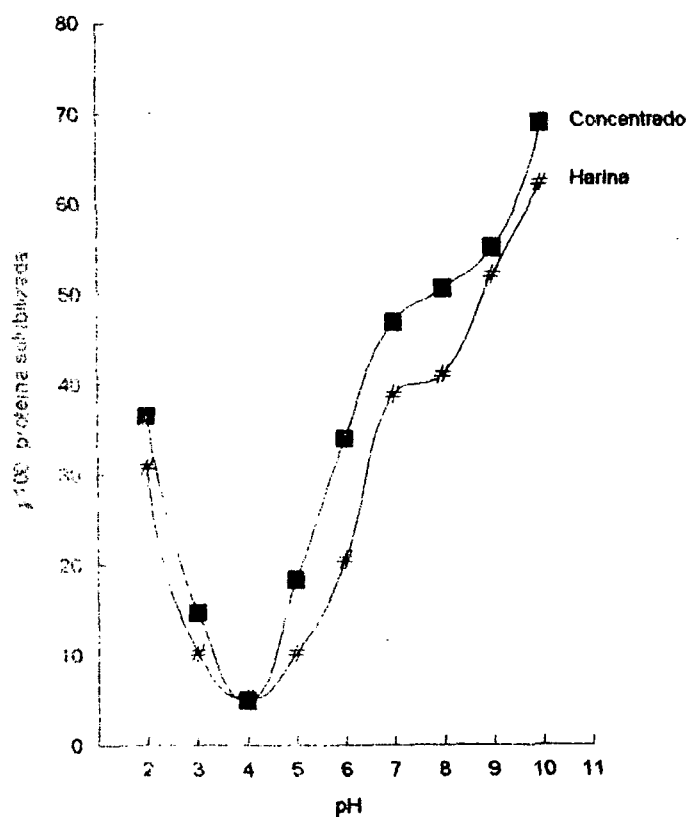
c: N x 6,25

d: Azúcares totales - azúcares reductores x 0,95

e: análisis realizado en mezcla de harina de cují proveniente de 7 lotes

GRAFICO 1

Solubilidad de la proteína como una función del pH en suspensiones al 1,00 g/100 del concentrado (■) y la harina (#) de *P. juliflora* (p=0,001)



En presencia de NaCl a concentraciones entre 0,10 - 1,00 M y a valores de pH 4,00; 7,00; 9,00 y 10,00 el índice de solubilidad (Gráfico 2) mostró un incremento altamente significativo (p=0,00) en la concentración de proteína solubilizada en suspensiones entre 0,10 y 0,75 M comparada con la obtenida en solución acuosa para los mismos valores de pH (Gráfico 1), con un máximo de solubilización a pH 9,00 y 10,00 en solución 0,75 M (99,50 g/100). Aparentemente, dependiendo del pH y la molaridad de la suspensión, el NaCl ejerce un marcado efecto en la solubilidad de la proteína de cují al alterar el equilibrio asociación-disociación, la estabilidad de su estructura y la velocidad de los cambios en la conformación de esta proteína aumentando o disminuyendo su solubilidad, siendo esta conducta un excelente índice de su funcionalidad y por consiguiente, de sus limitaciones o potenciales aplicaciones en alimentos proteicos. Conductas similares han sido reportadas para otras proteínas vegetales (12,14,16,18).

Efecto del calor húmedo en la solubilidad de la proteína: El calentamiento de la proteína a 112 °C por 5 min incrementó significativamente su solubilidad (p=0,001) a valores de pH entre 4,00 y 8,00 (Gráfico 3) comparada con la proteína cruda (Gráfico 1) o con la adición de NaCl a concentraciones entre 0,10 y 0,50 M (Gráfico 2), lográndose una concentración de proteína solubilizada a pH 8,00 de 99,50 g/100. Al incrementar el tiempo de exposición a 15 y 30 min, se observó una pérdida significativa de la solubilidad (p=0,020; p=0,006 respectivamente), en comparación con la observada a los 5 min hasta valores de pH 6,00 y 7,00 respectivamente, donde ocurrió un incremento de la misma pero sin observarse una diferencia significativa en las concentraciones de proteína solubilizada entre ambas temperaturas (p= 0,137). Resultados similares fueron reportados por Carbonaro et al (12) para *P. vulgaris* al someter a calentamiento la proteína a 120 °C por 20 min.

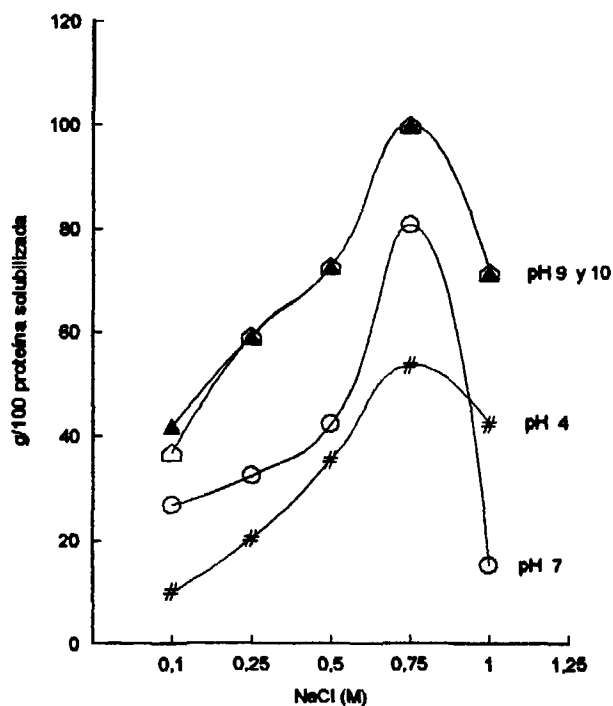
Es importante señalar que la pérdida o disminución de la solubilidad de una proteína no significa necesariamente un efecto totalmente negativo sobre la misma, ya que la desnaturalización causada por el calor puede mejorar otras de sus propiedades funcionales (32). En este caso sólo cambiaría su utilidad.

Capacidad de absorción de agua: La capacidad de absorción de agua como una función del pH a 25, 50 y 75 °C es mostrada en el Gráfico 4, donde se observó una máxima absorción a pH 6,00 para todas las temperaturas (p=0,10) y un marcado descenso al incrementar ambos parámetros (pH, Δ) debido posiblemente a la solubilización de la proteína. Los gramos de agua absorbidos para todos los valores de pH y temperatura evaluados, fueron mayores a los reportados por Hassan et al (13) para *M. peregrina* y soya; Bhattacharya et al (14) para *T. indica*; Xu y Diosady (15), Mahajan y Saroj (18) para *B. campestris* y Gbenle y Onyekachi (19) para semillas de

C. citrullus y *C. edulis*. Sin embargo, a pesar de que una alta absorción de agua como la observada a pH 6,00 a 50 y 75 °C puede ser importante en propiedades como solubilidad, viscosidad y gelación, ésta pudiera no ser de gran utilidad para otras propiedades debido a que un material con alta capacidad de absorción de agua puede embeber una cantidad desproporcionada de agua y deshidratar otros componentes en el sistema(15).

GRAFICO 2

Solubilidad de la proteína a pH 4,7,9 y 10 en suspensiones al 1,00 g/100 del concentrado en soluciones de NaCl 0,10; 0,25; 0,50; 0,75 y 1,00 M

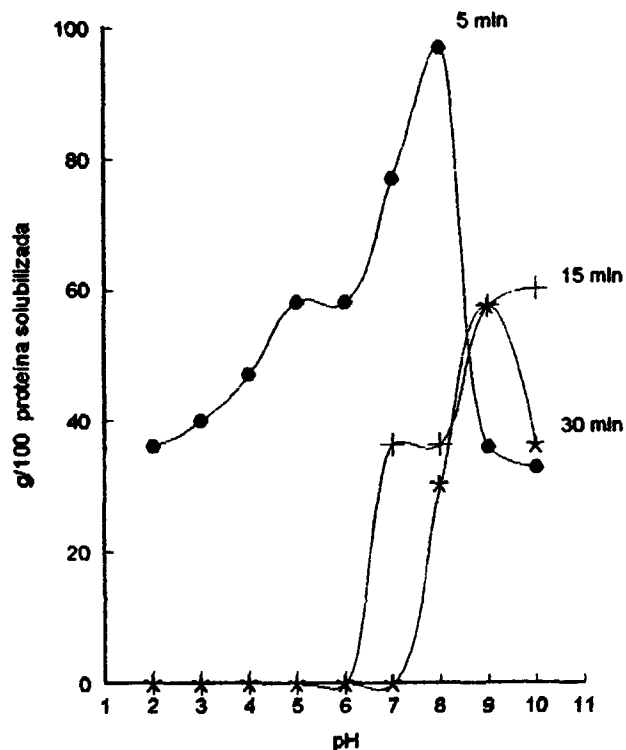


Una conducta contraria se observó al evaluar esta propiedad en presencia de NaCl a concentraciones 0,50; 0,75 y 1,00 M a los mismos valores de pH (Gráfico 5). A pH 4,00 y a concentraciones de NaCl 0,50 y 0,75 M, la proteína absorbió mayor cantidad de agua a la absorbida en ausencia de sal para luego disminuir progresivamente al aumentar el pH de la suspensión. A una concentración 1,00 M, la curva de absorción mostró un perfil similar al mostrado por la proteína en solución acuosa pero con un máximo de absorción a pH 6,00 significativamente diferente ($p=0,004$) al observado a 25, 50 y 75 °C, debido posiblemente a una disminución en la concentración de proteína solubilizada.

GRAFICO 3

Efecto del calor húmedo en la solubilidad de la proteína como una función del pH en suspensiones al 1,00 g/100 de concentrado. Temperatura 112 °C. Tiempo de calentamiento: 5, 15 y 30 min.

($p= 0,001$ a los 5 min de calentamiento)



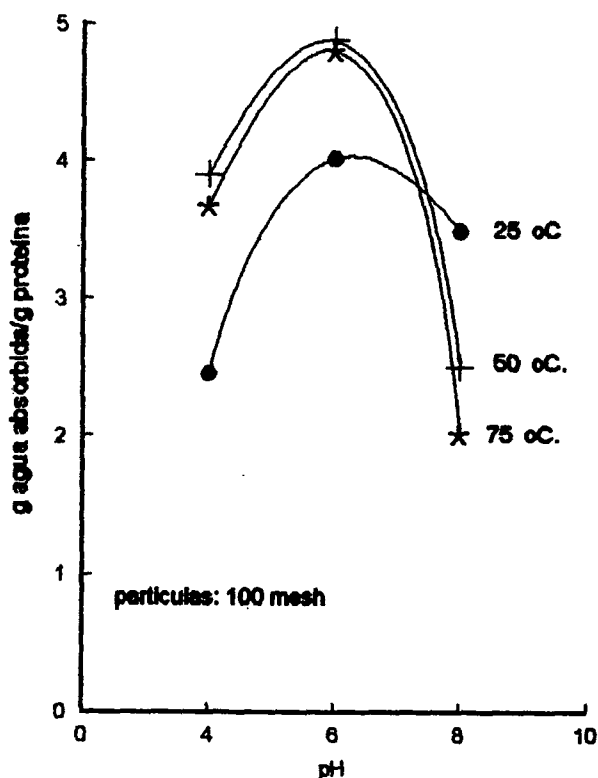
Los resultados obtenidos ponen en evidencia la influencia que factores como el pH, ionicidad y temperatura ejercen sobre la capacidad de absorción de agua de la proteína de cují, sugiriendo a su vez, la amplia variedad de condiciones bajo las cuales se puede utilizar en la elaboración de productos en los que se requiera de una buena interacción agua-proteína como los alimentos viscosos, sopas, embutidos, etc.

Capacidad de absorción de aceite: La capacidad de absorción de aceite a 25, 50 y 75 °C y en presencia de NaCl a concentraciones del 0,25; 0,50 y 1,00 g/100, está representada en la Gráfica 6 donde se apreció la poca influencia del calor sobre esta propiedad al no observarse una diferencia significativa ($p=0,082$) en los gramos de aceite retenidos por la proteína a las temperaturas estudiadas. Sin embargo, en presencia de NaCl si se observó una diferencia significativa ($p=0,024$) en los gramos de aceite retenidos, siendo mayor esta absorción al

0,25 g/100 debido posiblemente al efecto desnaturizante del NaCl a concentraciones mayores (0,50 y 1,00 g/100) que pudieran disminuir esta capacidad. No obstante, los valores de absorción de grasa obtenidos para la proteína de cují fueron similares a los reportados para *M. peregrina*(13), *B. campentris*(15,16) y semillas de *C. citrullus* y *C. edulis* (19), y mayores a los reportados para la proteína de soya (13,15) y maní (16).

GRAFICO 4

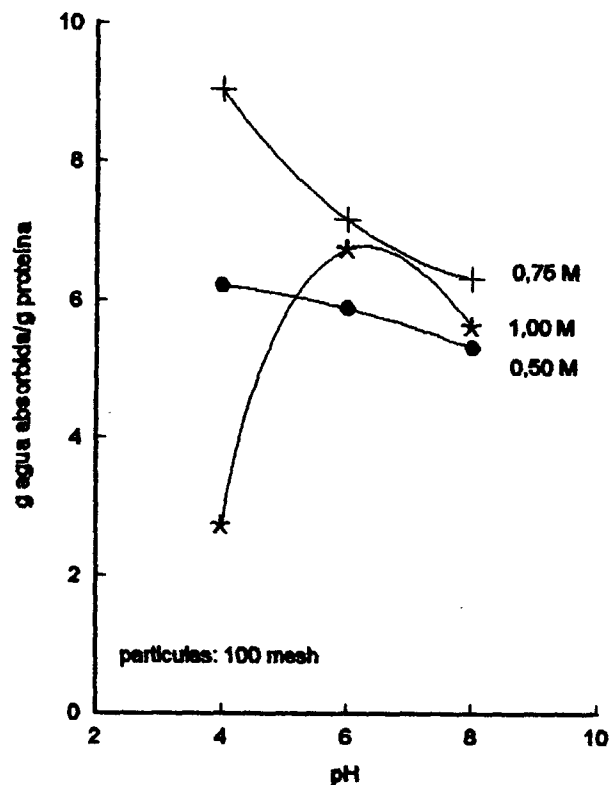
Capacidad de absorción de agua como una función del pH a 25, 50 y 75 °C en suspensiones al 1,00 g/100 del concentrado



Los resultados observados demuestran que la proteína de cují posee una capacidad de absorción de grasa adecuada tomando en cuenta que una proteína de origen vegetal posee una buena capacidad de absorción de aceite si la misma es de 3,00 g aproximadamente (32). Adicionalmente, presentan a esta proteína como una alternativa para la sustitución de proteínas de origen animal en alimentos donde la absorción de aceite sea una propiedad importante para el mejoramiento del «flavor» y la textura del producto.

GRAFICO 5

Capacidad de absorción de agua como una función del pH en suspensiones al 1,00 g/100 del concentrado en soluciones de NaCl 0,50; 0,75 y 1,00 M a temperatura ambiente



Capacidad espumante y estabilidad de la espuma: Los volúmenes (ml/100) de espuma formados por el concentrado y la albúmina de huevo son mostrados en la Tabla 2. La capacidad espumante del concentrado fue afectada por el pH y la molaridad de la suspensión. En solución acuosa a pH 6,00 y 7,00 se observaron volúmenes de espuma mayores al formado por la albúmina de huevo considerada como proteína de excelencia por su capacidad espumante y empleada generalmente como referencia comparativa al evaluar estas propiedades(32). Al determinar el efecto del NaCl, se observó un incremento en el volumen de espuma al aumentar el pH para cada una de las molaridades evaluadas, lográndose un volumen de espuma máximo a pH 7,00 a una concentración 0,50 M. Sin embargo, el incremento de la molaridad para cada pH causó una disminución en los volúmenes espuma al disminuir la concentración de proteína solubilizada, coincidiendo con lo señalado por Mahajan y Dua (18), quienes reportaron una relación directa entre la proporción de proteína solubilizada y capacidad espumante.

GRAFICO 6

(A) Capacidad de absorción de aceite a 25, 50 y 75°C. (B) Capacidad de absorción de aceite en presencia de NaCl a concentraciones del 0,25; 0,50 y 0,75 g/100 a temperatura ambiente. Tamaño de las partículas: 100 mesh

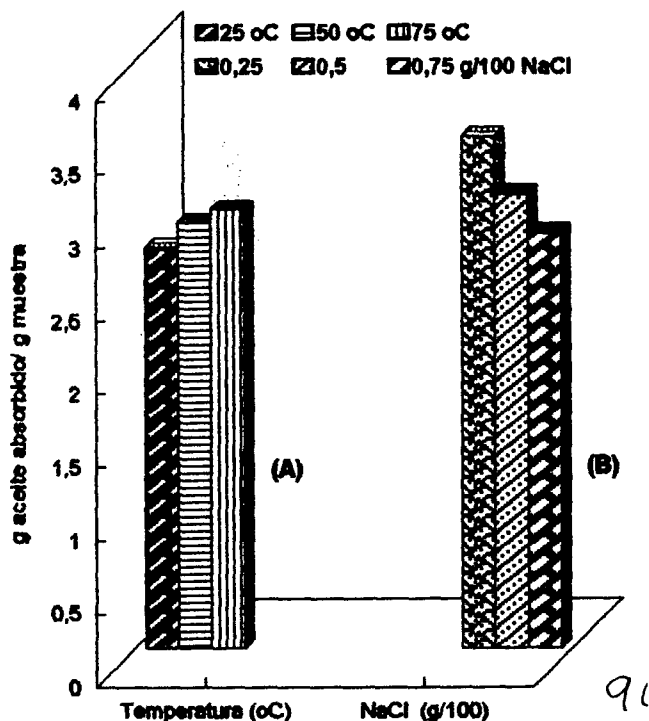


GRAFICO 7

Estabilidad de la espuma en suspensiones a pH 6 (sol. acuosa), pH 7 (sol de NaCl 0,50 M) y albúmina de huevo (pH 5,80) como referencia comparativa. Se tomó como 100% el volumen de espuma en tiempo 0 min. Concentración de proteína al 1,00 g/100

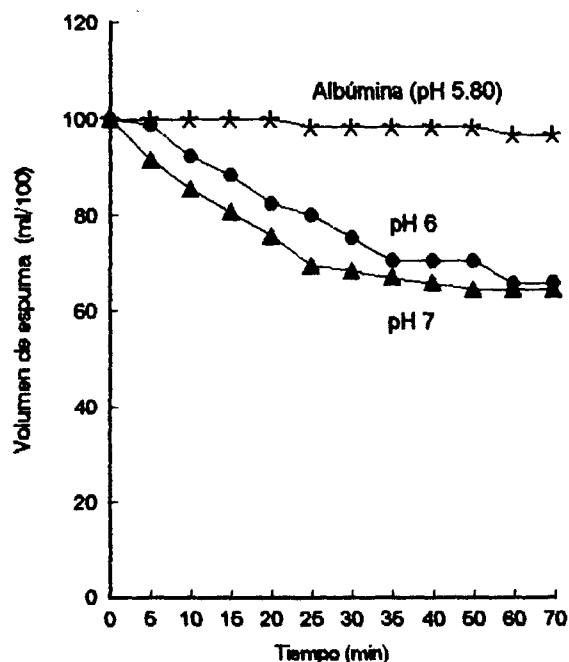


TABLA 2

Volúmenes de espuma formados por el concentrado y la albúmina de huevo (ml/100). Efecto del pH y el NaCl (M)

Suspensiones*	Concentrado			Albúmina
	pH 5,00	pH 6,00	pH 7,00	pH 5,80
Agua destilada	111,00**	157,00	149,00	128,00
NaCl 0,50 M	114,00	130,00	164,00	—
NaCl 0,75 M	116,00	130,00	140,00	—
NaCl 1,00 M	118,00	130,00	130,00	—

* Suspensiones del concentrado y albúmina al 1,00 g/100

** Resultados expresados como ml/100 de espuma formados tomando como 100% el volumen inicial de la suspensión.

Al comparar la estabilidad de la espuma de las suspensiones a pH 6,00 en solución acuosa y a pH 7,00 en solución de NaCl 0,50 M, con la estabilidad mostrada por la albúmina de huevo (Gráfico 7), se observó entre estas una diferencia altamente significativa ($p=0,00$) con una disminución progresiva del volumen los primeros 60 min para el concentrado y sólo una ligera disminución para la albúmina después del mismo período de tiempo.

La baja estabilidad y el marcado drenaje observado para el concentrado pudo deberse a factores como tiempo y velocidad de batido, presencia en el concentrado de componentes como azúcares y grasa (Tabla 1), que pudieron influir en la capacidad de formar espuma y/o estabilidad de la misma, retardo en el grado crítico de desnaturalización de superficie requerido para estabilizar las membranas o películas formadas alrededor de las vacuolas de aire, o a la concentración de proteína empleada (11,33). Meyer et al(1) reportaron una buena capacidad espumante y estabilidad de la misma en suspensiones al 4.0 g/100 de proteína de *P.juliflora*, y Bolnedi et al (33) observaron un incremento en la capacidad espumante y estabilidad de la misma en proteínas de origen vegetal y animal al incrementar la concentración de las suspensiones hasta 8.0 g/100, lo que sugiere que ambas propiedades para *P.juliflora* son susceptibles de ser mejoradas variando las condiciones de su evaluación.

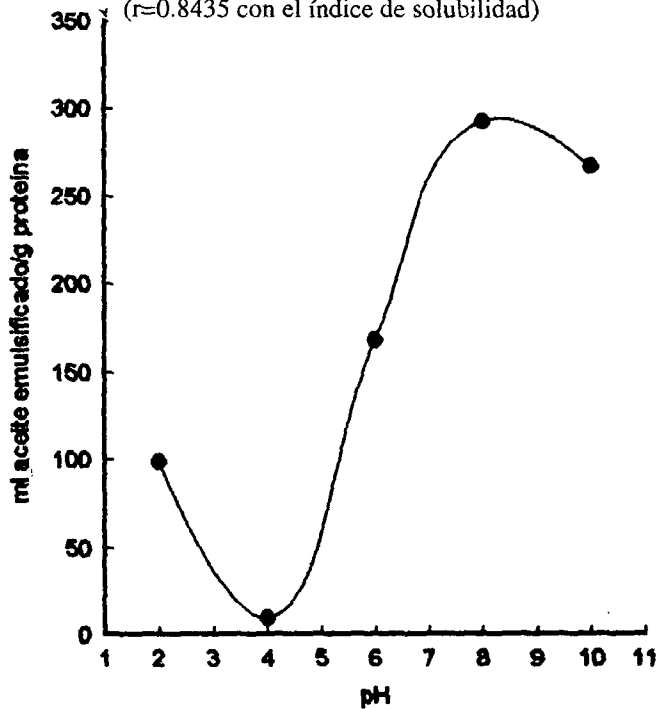
Capacidad emulsificante y viscosidad de la emulsión:

La capacidad emulsificante (CE) del concentrado como una función del pH es mostrada en la Gráfico 8. Esta propiedad al igual que el índice de solubilidad, mostró una curva de perfil en forma de U con una CE mínima al punto isoeléctrico de 9,90 ml aceite/g proteína y una máxima a pH 9,00 de 412,0 ml aceite/g proteína. Asimismo, ambas curvas mostraron una correlación positiva de $r=0,8434$ con un nivel de significación

$p=0.004$; conducta de esperarse debido a que la CE de proteínas solubles depende del balance hidrofílico-lipofílico el cual es afectado por el pH (26). resultados similares han sido reportados para proteínas de diversas especies vegetales(13,15,18,26,34), sin embargo, la comparación de resultados sobre la capacidad emulsificante de una proteína con los reportados previamente para otras, no es directamente aplicable debido al uso de métodos bajo condiciones no estandarizadas en cada uno de ellos. No obstante, los resultados indican que el concentrado de *P. juliflora* posee una CE mayor a la reportada para los concentrados proteicos de *M. peregrina* y soya (13,15,18).

GRAFICO 8

Capacidad emulsificante de la proteína como una función del pH en suspensiones al 1,00 g/100 del concentrado. ($r=0.8435$ con el índice de solubilidad)



Basados en los resultados obtenidos se midió la viscosidad de las emulsiones a pH 6,00; 7,00 y 8,00 (Gráfico 9), observándose también una conducta similar entre estas tres propiedades; solubilidad, capacidad emulsificante y viscosidad.

Contrario a lo observado al determinar el índice de solubilidad de la proteína en presencia de NaCl (M) (Gráfico 2) la capacidad emulsificante mostró un descenso progresivo a medida que incrementó la molaridad de la suspensión (Gráfico 10), observándose una diferencia significativa ($p=0.002$) en el volumen de aceite requerido para colapsar la emulsión al incrementar la molaridad de la suspensión a 0,75 y 1,00 M, por lo cual no coincide con lo señalado por otros autores (9,10,18,31,32), quienes afirmaron que el incremento de la fuerza iónica mejora la capacidad emulsificante de una proteína al mantener mayor cantidad de la misma en solución.

GRAFICO 9

Viscosidad de las emulsiones (proteína-aceite) a pH 6, 7 y 8. Temp. 23.8°C. Mediciones realizadas con aguja SPO2 a 50 rpm. para la emulsión de pH 6 y aguja SPO3 a 100 rpm para las emulsiones a pH 7 y 8

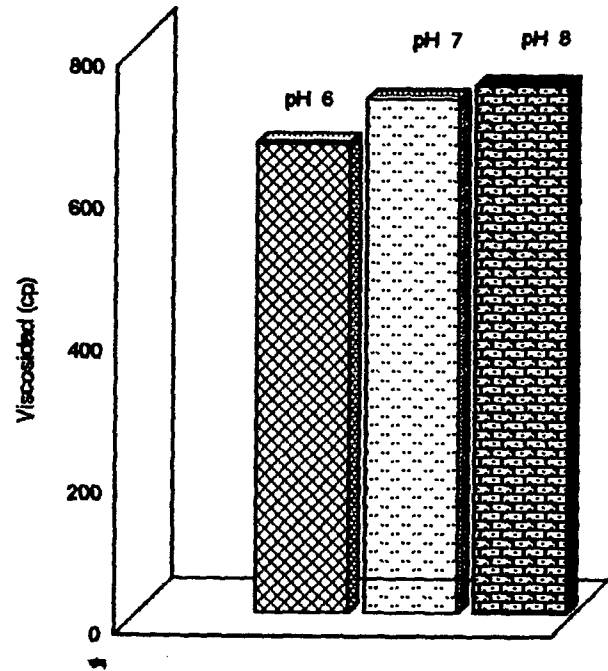
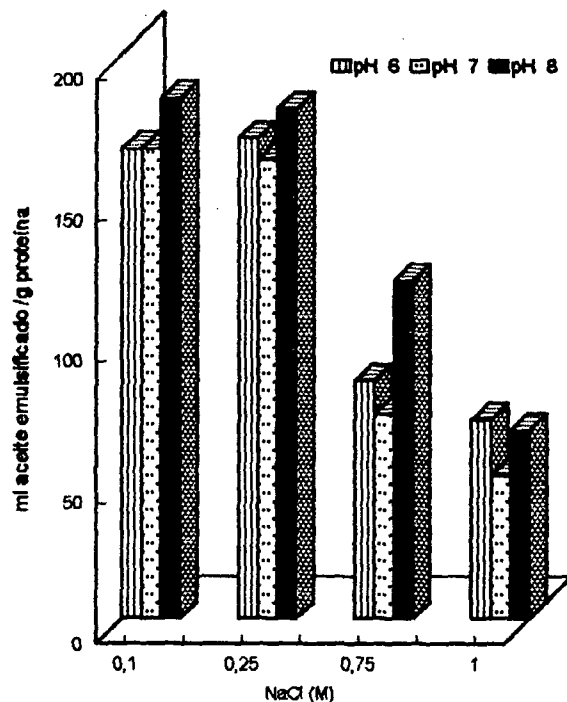


GRAFICO 10

Efecto del pH y el NaCl (M) en la capacidad emulsificante del concentrado a temp. ambiente



AGRADECIMIENTO

Se agradece al Prof. William Henríquez M. Sc Estadística Matemática, Jefe de la sección de Evaluación y Seguimiento Estudiantil de la Universidad «Francisco de Miranda», su asesoramiento y colaboración en la realización de los análisis estadísticos realizados.

REFERENCIAS

- Meyer D, Becker B, Gumbmann MR, Vohre P., Neukom H. & Saunders RM. Processing, composition, nutritional evaluation and utilization of mesquite (*Prosopis spp*) pods as a raw material for the food industry. *J Agric Food Chem* 1986; 34:914-9119.
- Salím A, Delgado M & Díaz M. Evaluación de la potencialidad de los frutos del cují (*Prosopis juliflora*) en la formulación de productos alimenticios. *Acta Científica Venezolana*. Vol 40, Supl 1, 1989; pp 193.
- Del Valle FR, Escobedo M, Muñoz MJ, Ortega R & Bourges H. Chemical and nutritional studies on mesquite benas (*P. juliflora*). *J Food Sci*. 1983;48:914-919.
- Lumen BO, Becker R and Reyes PS. Legumes and a cereal with high methionine/cysteine contents. *J Agric Food Chem* 1986;34:361-364.
- Marangoni A & Intez A. Composition and properties of seeds and pods of the tree legume *Prosopis juliflora* (DC). *J Food Agric* 1988;44:99-110.
- Satterlee LD, Marshall HF & Tennyson JM. Measuring protein quality. *J Amer Oil Chem Soc* 1979;56:103-109.
- Pak N, Araya H, Villalon R & Tagle M. Analytical study of tamarugo (*Prosopis tamarugo*) on autochthonous Chilean feed. *J Sci Food Agric* 1977;28:59-62.
- Inklaar P & Fortuin J. Determining the emulsifying and emulsion stabilizing capacity of protein meat additives. *Food Technol*. 1969;23 (1):103-107.
- McWatters KH & Cherry JP. Functional properties of peanut paste as affected by moist heat treatment of full fat peanuts. *J Food Sci* 1975;40:1205-1210.
- McWatters KH & Cherry JP. Emulsification, foaming and protein solubility properties of defatted soybean, peanut, field pea and pecan flours. *J Food Sci* 1977;42 (6):1444-1447, 1450.
- Kinsella JE. Functional properties of proteins in food. A survey. *J Food Sci* 1976;37:219-280.
- Carbonaro M, Vecchini P & Carnovale E. Protein solubility of raw and cooked beans (*Phaseolus vulgaris*): Role of the basic residues. *J Agric Food Chem* 1993;41(8):1169-1175.
- Hassan A, Al-Kahtani & Abou-Arab AA. Comparison of physical, chemical and functional properties of *Moringa peregrina* (Al-Yassar o Al-Ban) and soy proteins. *Cereal Chem* 1993;70(6):619-625.
- Bhattacharya S, Bal S & Mukherjee RK. Functional and nutritional properties of tamarind (*Tamarindus indica*) kernel protein. *Food Chem* 1994;49:1-9.
- Xu L & Diosady LL. Functional properties of chinese rapeseed protein isolates. *J Food Sci* 1994;59(5):1127-1130.
- Vincent P & Prakash V. Functional properties of homogeneous protein fractions from peanut (*Arachis hypogaea L*). *J Agric Food Chem* 1994;42(2):274-278.
- Vani B & Zayas JF. Foaming properties of rapeseed protein isolates. *J Food Sci Technol* 1995; 32(2):162-165.
- Mahajan A and S Dua. Functional properties of rapeseed protein isolates. *J Food Sci Technol*. 1995;32 (2): 162-165.
- Gbenle GO & Onyekachi CN. Comparative studies on the functional properties of the proteins of some Nigerian oilseeds: groundnut, soybean and two varieties of melon seeds. *Trop Sci* 1995;35:150-155.
- Guerra MJ & Park IR. Extraction of sesame seed protein and determination of its molecular weight by gel electrophoresis. *J Amer Oil Chem Soc* 1975;52:73-75.
- A.O.A.C. Official Methods of Analysis. 14 ed. Association of Official Analytical Chemists. Washington, DC, USA 1984.
- Technical Bulletin N° TDFAB-2. Total dietary fiber assay kit. Sigma Chemical Co. St. Louis, Mo. USA, March, 1993.
- Nielsen S. Introduction to the chemical analysis of foods. Tomo 1, Ed. James and Barthlet Pub. Boston. USA 1995; pp171-180.
- Prosly L, Asp NG, Furda I, DeVries JW, Schweizer F & Harland BF. Determination of total dietary fiber in foods and food products: Collaborative study. *J Assoc Off Anal Chem* 1985;68(4):677-679.
- Lee R. Análisis de los alimentos. Métodos analíticos y de control de calidad. 2ª ed española, Ed. Acribia, Zaragoza, España, 1982; pp114-124.
- Sosulski F, Humber ES, Bui K & Jones JD. Functional properties of rapeseed flour, concentrate and isolate. *J Food Sci* 1976;41:1349-1352.
- Lowry O, Farr A, Rosenbraugh N & Randall R. Protein measurement with folin-phenol reagent. *J Biol Chem* 1951; 193:265-275.
- Salim AA. Fractionation, characterization and functional properties of the principal components of sesame seeds proteins. Fundación CIEPE. PI-041, pp 1-81, San Felipe, Yaracuy, Venezuela, 1984.
- Dench JE, Rivas N & Caygill JC. Selected functional properties of sesame (*Sesamum indicum L*) flour and two protein isolates. *J Sci Food Agric* 1981;32:557-564.
- Pérez C & Saad R. Estudio de las propiedades funcionales y nutricionales de proteínas modificadas del ajonjolí (*Sesamum indicum L*) *Arch Latinoamer Nutr* 1984;34(4):749-762.
- Swift C, Lickett C & Fryar A. Comminuted meat emulsions. The capacity of meat for emulsifying fat. *Food Technol*. 1961; 15:468-473.
- Kinsella JE. Functional properties of soy proteins. *J Amer Oil Chem Soc* 1979; 56(3):242-258m.
- Bolnedi V & Zayas JF. Foaming properties of selected plant and animal proteins. *J Food Sci* 1995; 60(5):1025-1028.
- Lin MJ, Humber ES & Sosulsky FW. Certain functional properties of sunflower meal products. *J Food Sci* 1974; 39:368-372.

Recibido: 23-07-1996

Aceptado: 13-06-1997

Germinação de soja BR-13 e Paraná: Efeito sobre os constituintes minerais

Mara Lucia Luiz Ribeiro¹, Elza Louko Ida² y Maria Cristina Neves de Oliveira³

Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Brasil

RESUMO. Este trabalho foi realizado com o objetivo de se avaliar o efeito da germinação sobre os constituintes minerais (cálcio, fósforo, magnésio, potássio, cobre, ferro, manganês e zinco) da soja. Para os ensaios foram utilizados os cultivares de soja - *Glycine max* (L) Merrill -BR-13 e Paraná. Estes foram germinados em câmara de germinação a 25 °C e 100% de umidade, de 0 a 72 horas, com coleta de amostras em intervalos de 6 horas entre os períodos. As análises de variância e comparações entre médias indicaram que os teores dos constituintes minerais permaneceram praticamente constantes até 72 horas de germinação.

Palavras chave: Soja, cultivar, germinação, minerais.

SUMMARY. Germination of soybean BR-13 e Paraná: Effect on the minerals constituents. The objective of this work was to evaluate the effect of germination on the minerals constituents (calcium, phosphorus, magnesium, potassium, copper, iron, manganese and zinc) of soybean. For the assays the soybean cultivars -*Glycine max* (L) Merrill-BR-13 and Paraná were used. These were germinated in camera of germination at 25 °C and 100% of moisture, from 0 to 72 hours, collecting the samples in intervals of 6 hours. The analysis of variance and comparison among the means indicated that the minerals constituents remained constant up to 72 hours of germination.

Key words: soybean, cultivars, germination, minerals

INTRODUÇÃO

A soja é uma leguminosa que apresenta um grande potencial para a melhora da alimentação humana. O seu consumo tem sido incentivado, principalmente por seu elevado teor protéico, com altos níveis de alguns aminoácidos essenciais, particularmente lisina (1), leucina e isoleucina e importantes propriedades funcionais (2,3). Esta leguminosa também contém quantidades substanciais de vitaminas como tiamina (B₁), riboflavina (B₂) e niacina e é considerada uma rica fonte de minerais, como ferro, cálcio e fósforo (2,3), quando comparada a outras espécies de leguminosas.

Com o desenvolvimento de novas tecnologias, a proteína de soja tem sido indicada para suplementar ou substituir a proteína animal. Entretanto, pode haver limitações neste processo, devido aos constituintes antinutricionais, tais como ácido fítico, inibidores de tripsina, fitohemaglutininas, etc (4,5). Entre estes constituintes, pode-se destacar o ácido fítico ou inositol hexafosfato, que se constitui na principal forma de

armazenagem de fósforo. Este ácido é encontrado facilmente quelato com metais di e trivalentes, tais como cálcio, cobre, zinco, ferro, magnésio, manganês e molibdênio (6,7,8). O ácido fítico pode também interagir com proteínas e vitaminas, sendo desta forma considerado com um dos fatores primários limitantes do valor nutritivo de proteínas de cereais e leguminosas (9). A reduzida disponibilidade mineral das proteínas de soja é de pouca importância quando esta é usada em baixos níveis, como um ingrediente funcional. Entretanto, se esta apresentar uma porção significativa da dieta, como no caso de alimentos infantis ou na incorporação em alimentos destinados à prevenção e tratamento de má nutrição, cuidados deverão ser tomados com relação à processos que maximizem a disponibilidade mineral (10).

Em relação a estes constituintes antinutricionais, vários processos para inativá-los ou removê-los têm sido empregados tais como, moagem, hidratação, cozimento, fermentação, extração com solvente e germinação (11,12,13,14,15). Entre estes, o processo de germinação tem sido proposto como uma alterantiva para melhorar as qualidades da soja. Sua utilização apresenta vantagens, tais como elevado rendimento de produção em curto período de tempo, não sendo necessária a utilização de solo ou luz solar (16). Este tem sido desenvolvido em vários países para superar algumas das desvantagens da soja não germinada, tais como «flavour» e odor indesejáveis (14).

Os efeitos benéficos da germinação da soja podem ser observados pelo aumento de seu valor nutritivo, detectados através da elevação no teor de vitamina C (8,7,14,17) e

1. Professora Assistente do Departamento de Bioquímica - Centro de Ciências Exatas, Universidade Estadual de Londrina, Brasil
2. Professora Adjunta do Departamento de Tecnologia de Alimentos e Medicamentos, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual de Londrina
3. Pesquisadora MS. Area de Estatística Experimental, EMBRAPA-CNPSO, Londrina-Pr.

riboflavina (17), no conteúdo e na digestibilidade protéica (18,14,17). Suas qualidades nutricionais também podem ser melhoradas pelo aumento da disponibilidade de elementos essenciais como vitaminas e minerais (6,8,7). Esta disponibilidade aumentada ocorre devido à ativação de enzimas durante a germinação dos grãos. Entre estas enzimas, tem-se a fitase, a qual hidrolisa o ácido fítico (19). Consequentemente, durante este processo, observa-se uma redução nos teores de ácido fítico, com possível aumento de disponibilidade de minerais, vitaminas e proteínas.

Poucos estudos existem sobre a variação dos principais constituintes minerais da soja durante o processo de germinação, sendo que há controvérsias sobre os resultados obtidos. Em vista do exposto, o objetivo do trabalho foi investigar os efeitos da germinação de soja BR-13 e Paraná sobre os macro e microconstituintes minerais.

MATERIAIS E METODOS

Germinação da soja: Os grãos de soja, *Glycine max* (L) Merrill, cultivares Br-13 e Paraná, foram cedidos pela EMBRAPA - CNPSo - (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Centro Nacional de Pesquisa de Soja), Londrina-Pr-Brasil.

Inicialmente, os grãos dos dois cultivares de soja foram seleccionados para remoção dos danificados ou manchados e de materiais estranhos. Os grãos foram germinados em papel de germinação (37,5 x 28,2 cm) previamente umedecidos com água deionizada, seguindo um padrão de distribuição convencional. Posteriormente, os grãos foram cobertos com uma outra folha de papel de germinação, também umedecida, dobradas e enroladas formando pacotes. A germinação ocorreu em câmara de germinação (DeLeo) mantida a 25 °C, 100% de umidade e períodos alterados de luminosidade.

Foram estabelecidos doze diferentes tempos de germinação com intervalos de seis horas entre os períodos, até o final de setenta e duas horas. Ao término de cada tempo, as amostras foram imediatamente transferidas para nitrogênio líquido (-210 °C), interrompendo completamente as atividades metabólicas do grão. Os tratamentos foram realizados em quatro repetições. A soja não germinada serviu como parâmetro de controle. As sojas germinadas e previamente congeladas foram liofilizadas, moídas e armazenadas à -20 °C para análises.

As variáveis estudadas foram os macroconstituintes (% de Ca, P, Mg e K) e microconstituintes (ppm de Cu, Fe, Mn e Zn).

Determinação dos constituintes minerais: Após a determinação de umidade das farinhas de soja, por secagem em estufa a 105 °C até peso constante, foram determinados os macro e microconstituintes minerais. Inicialmente, amostras de 0,5 gramas foram pesadas em tubos de ensaio, apropriado para bloco digestor, ao qual foram adicionados 7 ml de mistura

de ácido nítrico e ácido perclórico, na proporção de 4:1 (v/v). O mesmo foi colocado para digestão, a uma temperatura inicial de 50 °C. Após 30 minutos, esta temperatura foi elevada a 100 °C até o desaparecimento de fumaça âmbar intensa. Outra vez, a temperatura foi aumentada para 170 °C, até o desaparecimento total da fumaça. Foi obtida uma amostra límpida e transparente. Quando a amostra inicial não se apresentou límpida e transparente, foi adicionada uma nova alíquota da mistura dos ácidos. Esta foi então submetida a um maior tempo de digestão, até que fosse obtido 1 ml de amostra límpida e transparente para posteriores diluições.

Para a determinação de microconstituintes (Cu, Zn, Fe, Mn) foram acrescentados à amostra digerida, 29 ml de água deionizada, em uma diluição de 60 vezes (p/v) em relação à massa inicial da amostra. A amostra foi homogeneizada completamente em um agitador de tubos. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro de absorção atômica, sendo os resultados finais expressos em partes por milhão (ppm).

Para a determinação dos macroconstituintes (P, K, Ca, Mg) uma nova diluição foi realizada, onde 1 ml da primeira diluição foi transferido para um tubo de ensaio e o volume completado para 40 ml, com água deionizada, em uma diluição de 2.400 vezes. Após homogeneização, foi determinado o teor de fósforo (P) e potássio (K), sendo que para o potássio uma alíquota desta diluição foi tomada para leitura em fotômetro de chama. O fósforo foi quantificado segundo modificações da técnica de Chen et al (20). Foram adicionados em 5 ml de amostra diluída, 10 ml de uma mistura reativa (molibdato de amônio 2% subcarbonato de bismuto 0,2% e 15 ml de ácido sulfúrico concentrado (d=1,89) e 1 ml de ácido ascórbico 1%. Foi efectuada a leitura em espectrofotômetro, a 660 nm. O cálcio (Ca) e magnésio (Mg) foram determinados em espectrofotômetro de absorção, onde foi tomado 1 ml da segunda diluição e completado o volume para 5 ml com solução de óxido de lantânio 0,5%, em uma diluição de 12.000 vezes. Os resultados foram expressos em porcentagem (g/100 g de amostra). Foram realizadas curvas padrões para os minerais analisados.

Delineamento experimental e análise estatística: O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com combinações de tratamentos em esquema fatorial (2 cultivares x 13 tempos de germinação) em quatro repetições.

Foram realizados estudos exploratórios para a identificação de dados discrepantes que comprometiam a homogeneidade de variância dos tratamentos em estudo. Posteriormente, foram realizadas as análises de variância e o teste de Duncan foi utilizado para comparações múltiplas de médias dos tratamentos, para todos os constituintes minerais, ao nível de 5% de probabilidade.

RESULTADO E DISCUSSÃO

Macroconstituintes minerais: Os macroconstituintes minerais analisados para os dois cultivares de soja foram cálcio, fósforo, magnésio e potássio.

As análises de variâncias indicaram que houve diferenças significativas nos teores percentuais de cálcio, fósforo, magnésio e potássio como relação à cultivares, horas de germinação e interação cultivar x horas de germinação. Entretanto, os resultados (Tabelas 1, 2, 3 e 4 respectivamente) obtidos para estas análises são próximos, acarretando a formação de subgrupos (letras minúsculas nas colunas das respectivas tabelas), o que leva a resultados praticamente constantes entre os diferentes tempos de germinação. Os coeficientes de variação para as determinações de teores de cálcio, fósforo, magnésio e potássio foram de 8, 12; 1,91; 3,91 e 2,89%, respectivamente.

TABELA 1

Médias da variável teor de cálcio (g/100 g) com relação à interação de cultivar x horas de germinação.

Horas de germinação	Cultivar			
	BR-13 (g/100g)	Paraná (g/100g)		
	1)			
0	0,180 ab	A	0,150 c	B
6	0,165 bc	A	0,175 abc	A
12	0,158 c	A	0,185 a	A
18	0,180 ab	A	0,165 abc	B
24	0,178 abc	A	0,160 abc	A
30	0,190 a	A	0,170 abc	B
36	0,160 bc	A	0,155 bc	A
42	0,165 bc	A	0,160 abc	A
48	0,165 bc	A	0,160 abc	A
54	0,190 a	A	0,160 abc	B
60	0,190 a	A	0,173 abc	A
66	0,195 a	A	0,173 abc	A
72	0,190 a	A	0,178 ab	A

1). Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem significativamente entre si pelo teste de Duncan, ao nível de 5% de probabilidade.

TABELA 2

Médias da variável teor de fósforo total (g/100 g) com relação à interação de cultivar x horas de germinação.

Horas de germinação	Cultivar			
	BR-13 (g/100g)	Paraná (g/100g)		
	1)			
0	0,588 f	B	0,690 bc	A
6	0,613 de	B	0,695 abc	A
12	0,628 bcd	B	0,708 ab	A
18	0,618 cde*	B	0,707 ab	A
24	0,618 cde	B	0,683 cd	A
30	0,620 cde	B	0,715 a	A
36	0,610 e	B	0,713 ab	A
42	0,608 e*	B	0,697 abc	A
48	0,635 abc*	A	0,663 de	A
54	0,645 a	B	0,708 ab	A
60	0,635 abc	B	0,698 abc	A
66	0,635 abc	B	0,698 abc	A
72	0,638 ab	B	0,660 e	A

1). Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem significativamente entre si pelo teste de Duncan, ao nível de 5% de probabilidade.

*: Resultados obtidos através da média de três repetições.

TABELA 3

Médias da variável teor de magnésio (g/100 g) com relação à interação de cultivar x horas de germinação.

Horas de germinação	Cultivar			
	BR-13 (g/100g)	Paraná (g/100g)		
	1)			
0	0,183 ab	B	0,200 abcd	A
6	0,170 c	B	0,203 abc	A
12	0,173 bc	B	0,188 de	A
18	0,190 a	A	0,188 de	A
24	0,190 a	A	0,188 de	A
30	0,168 c	B	0,195 bcde	A
36	0,175 bc	B	0,193 cde	A
42	0,187 a*	A	0,195 bcde	A
48	0,173 bc*	B	0,210 a	A
54	0,173 bc*	B	0,203 abc	A
60	0,168 c	B	0,185 e	A
66	0,170 c	B	0,198 abcde	A
72	0,170 c*	B	0,207 ab	A

1). Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem significativamente entre si pelo teste de Duncan, ao nível de 5% de probabilidade.

Resultados obtidos através da média de três repetições.

TABELA 4

Médias da variável teor de potássio (g/100 g) com relação à interação de cultivar x horas de germinação.

Horas de germinação	Cultivar			
	BR-13 (g/100g)		Paraná (g/100g)	
	1)			
0	1,98 c	B	2,29 bcd	A
6	2,10 b*	B	2,26 cd	A
12	2,10 b	B	2,27 cd	A
18	2,13 ab	B	2,33 bcd	A
24	2,18 ab	A	2,24 d	A
30	2,19 ab	B	2,35 abc	A
36	2,16 ab	B	2,33 bcd	A
42	2,09 b*	A	2,29 bcd	A
48	2,20 ab	B	2,36 abc	A
54	2,20 ab	B	2,39 ab	A
60	2,22 a	B	2,35 abc	A
66	2,19 ab	B	2,45 a	A
72	2,24 a	A	2,09 e	B

1). Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem significativamente entre si pelo teste de Duncan, ao nível de 5% de probabilidade.

*: Resultados obtidos através da média de três repetições.

As médias da interação cultivar x horas de germinação para a variável teor de cálcio encontram-se na Tabela 1. No cultivar de soja BR-13 observa-se que os teores de cálcio permaneceram praticamente constantes. No tempo zero este cultivar apresentou 0,180% de cálcio e ao término de 72 horas, 0,190% que não diferiu estatisticamente do tempo zero. O cultivar de soja Paraná apresentou teores de cálcio semelhante ao BR-13. No tempo zero horas este cultivar apresentou 0,150% de cálcio e diferiu estatisticamente de 12 e 72 horas de germinação. Ao término de 72 horas o teor de cálcio para o cultivar Paraná foi de 0,178% que diferiu estatisticamente de zero horas. Os cultivares de soja BR-13 e Paraná apresentaram diferenças significativas entre si nos tempos de 0, 18, 30 e 54 horas, sendo que nestes tempos o cultivar BR-13 apresentou teores de cálcio superiores ao Paraná. Os cultivares BR-13 e Paraná apresentaram teores mais elevados de cálcio em 66 (0,195%) e 12 (0,185%) horas de germinação, respectivamente.

Resultados diferentes e contraditórios foram observados na literatura em relação à variação dos teores de cálcio durante a germinação. Lee & Karunanithy (21) analisaram os teores de cálcio em duas espécies de soja (*G. max* e *G. hispida*) e encontraram um aumento de 17,8 e 2,7%, respectivamente, após 72 horas de germinação Khader (22) obteve um aumento de 38,9% nos teores de cálcio em um cultivar de soja germinado por 72 horas. Bau citado por Bau et al (1) obteve aumentos de

11,04% nos teores de cálcio, em cinco dias de germinação. Este aumento foi atribuído à água de torneira utilizada para a hidratação dos grãos durante a germinação. Entretanto Danisová et al (17) encontraram reduções de 7 a 24% nos teores de cálcio em 48 e 96 horas de germinação, respectivamente, para um cultivar de soja. Esta diminuição foi atribuída à lixívia dos minerais na água de hidratação.

As médias da interação cultivar x horas de germinação para a variável teor de fósforo encontram-se na Tabela 2. Tendo em vista a formação de vários subgrupos, os resultados entre os diferentes tempos de germinação para os dois cultivares de soja BR-13 e Paraná permaneceram praticamente constantes. Considerando cada tempo de germinação, observa-se que o cultivar Paraná apresentou teores mais elevados de fósforo em relação ao BR-13 e foram estatisticamente distintos, exceto para 48 horas. Os maiores valores de fósforo foram observados em 30 horas para o cultivar Paraná (0,715%) e às 54 horas no cultivar BR-13 (0,645%). Contradições também são encontradas nos resultados do teor de fósforo em soja germinada por 72 horas. Khader (22) e Bau & Debry (7) encontraram um decréscimo de 14,9 e 6%, respectivamente, no teor de fósforo. Porém, Ahn & Yang (23) observaram para o mesmo tempo, um aumento de 7,2% no teor desta variável. Na Tabela 3 observa-se as médias para a variável teor de magnésio como relação à interação cultivar x horas de germinação. O cultivar Paraná mostrou resultados mais elevados no teor de magnésio, em relação ao BR-13. O cultivar Paraná diferiu significativamente do BR-13, exceto para os tempos de germinação 18, 24 e 42 horas. Os teores mais elevados de magnésio (0,210 e 0,190%) foram observados no tempo de 48 horas de germinação para o cultivar Paraná e 18 horas para o BR-13. Lee & Karunanithy (21) estudaram duas espécies de soja (*G. max* e *G. hispida*) germinadas e em 72 horas observam uma redução de 9,5 e 29,9% respectivamente, nos teores de magnésio.

As médias da variável teor de potássio com relação à interação cultivar x horas de germinação encontram-se na Tabela 4. Para os cultivares de soja BR-13 e Paraná observa-se teores de potássio praticamente constantes no decorrer da germinação, sendo que para o cultivar Paraná os teores de potássio foram mais elevados em relação ao BR-13. Estes teores, nos cultivares, apresentaram diferenças significativas exceto para os tempos de 24 e 42 horas. Os teores mais elevados de potássio (2,24 e 2,45%) foram observados em 72 e 66 horas de germinação para os respectivos cultivares BR-13 e Paraná. Entretanto, Lee & Karunanithy (21) encontraram reduções de 42,8 e 48% no teor de potássio em duas espécies de soja (*G. max* e *G. hispida*) germinadas por 72 horas.

Microconstituintes minerais: Os teores dos microconstituintes minerais cobre, ferro, manganês e zinco, em doze tempos de germinação, foram analisados para os dois cultivares de soja e submetidos a análise de variância.

As análises de variâncias dos resultados obtidos para os teores de cobre, ferro, manganês e zinco indicaram diferenças significativas como relação à cultivares, horas de germinação e interação cultivar x horas de germinação. Entretanto, os resultados obtidos (Tabelas 5, 6, 7 e 8, respectivamente) para estas análises são muito próximos, ocorrendo a formação de subgrupos, acarretando resultados praticamente constantes entre os diferentes tempos de germinação. Os coeficientes de variação para as determinações de teores, em ppm, de cobre, ferro, manganês e zinco foram de 7,22; 4,55; 5,35 e 4,4%, respectivamente.

Na Tabela 5 pode-se observar as médias para os teores de cobre em relação cultivar x horas de germinação.

TABELA 5

Médias da variável teor de cobre (ppm) com relação à interação de cultivar x horas de germinação.

Horas de germinação	Cultivar	
	BR-13 (ppm)	Paraná (ppm)
	1)	
0	14,50 ab	A 12,50 ab B
6	14,75 ab	A 13,00 ab A
12	15,50 a	A 13,00 ab B
18	15,00 ab	A 13,25 ab B
24	11,50 c	A 12,00 b A
30	13,50 b	A 12,25 b A
36	14,75 ab	A 13,25 a b B
42	14,75 ab	A 12,50 ab B
48	15,00 ab	A 12,00 b B
54	13,50 b	A 13,75 a A
60	15,00 ab	A 12,25 b B
66	13,75 ab	A 12,50 ab A
72	13,75 ab	A 12,00 b B

1). Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem significativamente entre si pelo teste de Duncan, ao nível de 5% de probabilidade.

O cultivar BR-13 apresentou teores de cobre mais elevados e significativamente distintos do cultivar Paraná, com exceção dos tempos 6, 24, 30, 54 e 66 horas de germinação. Os teores de cobre mais elevados (15,50 e 13,75 ppm) foram observados em 12 horas para o cultivar BR-13 e em 54 horas para o Paraná, respectivamente.

Na Tabela 6 observa-se as médias para a variável teor de ferro com relação à interação cultivar x horas de germinação.

TABELA 6

Médias da variável teor de ferro (ppm) com relação à interação de cultivar x horas de germinação.

Horas de germinação	Cultivar	
	BR-13 (ppm)	Paraná (ppm)
	1)	
0	123,25 ab	A 86,50 a B
6	122,50 ab	A 88,50 a B
12	118,75 bcd	A 73,75 bc B
18	102,25 e	A 77,75 bc B
24	120,50 ab	A 78,50 b B
30	111,75 cd	A 72,00 c B
36	124,00 ab	A 77,25 bc B
42	117,00 bcd	A 72,75 bc B
48	117,75 bcd	A 62,59 d B
54	128,00 a	A 77,75 bc B
60	111,00 d	A 72,75 bc B
66	116,00 bcd	A 77,00 bc B
72	119,50 bcc	A 77,25 bc B

1). Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem significativamente entre si pelo teste de Duncan, ao nível de 5% de probabilidade.

Considerando dentro de cada tempo, o cultivar BR-13 foi estatisticamente diferente do Paraná. O cultivar BR-13 apresentou o maior teor de ferro (128 ppm) em 54 horas e o Paraná (88,5 ppm) em 6 horas de germinação. Entretanto, Lee & Karunanithy (21) observaram reduções no teor de ferro de 9,5 e 29,9%, quando analisaram duas espécies de soja (*G. max* e *G. hispida*) germinadas por 72 horas. Danisová et al (17) encontraram reduções nos teores de ferro de 30 e 60% em 48 e 96 horas de germinação para um cultivar de soja.

Na Tabela 7 observa-se as médias da variável teor de manganês com relação à interação cultivares x horas de germinação.

O cultivar Paraná apresentou teores médios de manganês mais elevados quando comparado ao BR-13. O Paraná diferiu significativamente de BR-13, exceto nos tempos de germinação 6, 12, 24, 36, 42, 48, 54 e 60 horas. Os teores mais elevados de manganês (28,0 e 29,25 ppm) foram observados no tempo de 60 horas para os cultivares BR-13 e Paraná, respectivamente.

As médias para a variável teor de zinco com relação à interação cultivar x horas de germinação podem ser encontradas na Tabela 8.

TABELA 7
Médias da variável teor de manganês (ppm) com relação à interação de cultivar x horas de germinação.

Horas de germinação	Cultivar			
	BR-13 (ppm)		Paraná (ppm)	
	1)			
0	24,75 b	B	28,75 ab	A
6	26,50 ab	A	28,25 ab	A
12	25,75 ab	A	27,25 ab	A
18	27,67 a*	A	21,50 d	B
24	24,67 b*	A	21,50 d	A
30	20,00 c*	B	24,00 c	A
36	26,00 ab*	A	24,00 c	A
42	25,00 b*	A	26,67 b	A
48	27,50 a*	A	26,67 b	A
54	26,33 ab*	A	27,33 ab*	A
60	28,00 a	A	29,25 a	A
66	26,50 ab	A	22,25 cd	B
72	28,00 a	A	20,75 d	B

1). Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem significativamente entre si pelo teste de Duncan, ao nível de 5% de probabilidade.

*: Resultados obtidos através da média de três repetições.

TABELA 8
Médias da variável teor de zinco (ppm) com relação à interação de cultivar x horas de germinação.

Horas de germinação	Cultivar			
	BR-13 (ppm)		Paraná (ppm)	
	1)			
0	26,25 abcd	B	36,25 cde	A
6	26,75 abc	B	38,00 abcd	A
12	26,00 bcd	B	39,00 ab	A
18	25,25 cd	B	40,00 a	A
24	27,00 abc	B	37,50 bcde	A
30	24,50 d	B	40,00 a	A
36	26,75 abc	B	40,25 a	A
42	26,75 abc	B	35,25 e	A
48	28,25 a	B	37,50 bcde	A
54	27,25 abc	B	36,50 cde	A
60	27,75 ab	B	35,75 de	A
66	26,00 bcd	B	36,50 cde	A
72	25,75 bcd	B	38,25 abc	A

1). Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem significativamente entre si pelo teste de Duncan, ao nível de 5% de probabilidade.

Considerando dentro de cada tempo de germinação, o cultivar Paraná apresentou resultados mais elevados, sendo estatisticamente diferente do BR-13 em todos tempos de germinação. Para os cultivares Paraná e BR-13 os teores mais elevados de zinco (40,25 e 28,25 ppm) foram observados em 36 e 48 horas de germinação, respectivamente.

CONCLUSÕES

A partir das análises de variância e comparações entre médias dos macro e microconstituintes minerais para os cultivares de soja BR-13 e Paraná, durante o processo de germinação, pode-se concluir que os teores destes constituintes minerais permaneceram praticamente constantes durante 72 horas de germinação. Os dados obtidos para teores de minerais neste trabalho, são muito próximos, portanto, qualquer oscilação indica uma diferença significativa entre os tempos, pelo teste de Duncan. Apesar da variação dos minerais em termos nutricionais não ser expressiva, estatisticamente, foram observadas algumas respostas significativas, provavelmente devido a erros amostrais do processo analítico.

O processo de germinação estudado neste trabalho foi realizado em laboratório, não sendo utilizado o solo para o mesmo. Conseqüentemente, em relação ao teor de minerais, não ocorreram trocas destes entre o grão e o solo, como ocorre normalmente, o que acarretou poucas alterações em seus teores. Um outro fator que contribuiu para a manutenção dos teores de minerais foi a ausência de hidratação prévia dos grãos, o que provocaria a lixiviação destes minerais (24). Os resultados contraditórios observados na literatura, podem ser atribuídos aos diferentes procedimentos adotados durante a germinação, sendo que não há uma padronização a ser seguida em todos os experimentos realizados.

Apesar da manutenção dos teores de minerais, obtidos neste trabalho, durante o germinação, pode-se destacar a importância deste processo na nutrição humana. Durante a germinação, ocorre a ativação de várias enzimas, entre elas as fitases, as quais hidrolisam o ácido fítico. Uma vez que este se encontra quelado com minerais, esta hidrólise aumentará a disponibilidade destes para um melhor aproveitamento na alimentação humana.

AGRADECIMENTOS

As autoras agradecem à Coordenadoria de Pós-Graduação (CPG) da Universidade Estadual de Londrina e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo financiamento recebido e Ribeiro, M.L.L. agradece à Coordenadoria de Aperfeiçoamento do Pessoal de Nível Superior (CAPES) por concessão de bolsa de estudos.

REFERÊNCIAS

1. Bau HM, Villaume C, Nicolas JP, Méjean L. Effect of germination on chemical composition, biochemical constituents and antinutritional factors of soya bean (*Glycine max*) seeds. *J Sci Food Agric Essex* v.73, 1997; p1-9.
2. Smith AK, Cicrle JJ. Soybean: chemistry and technology. Westport: AVI. v.1. 1978.
3. Visser A, Thomas A. Review: soya protein products-their processing, functionality and application aspects. *Food Rev Int, New York* v.3, n 1/2, 1987.
4. Lam-Sanchez A. Production and nutritive value of soy-bean. *Arch Latinoamer Nutr* v.28, 1978; p155-168.
5. Osborn TW. Elemental composition of soybean meal and interlaboratory performance. *J Agric Food Chem, Washington*, v.25, n.2, 1977; p229-232.
6. Rackis JJ. Biological and physiological factors in soybeans. *J Am Oil Chem Soc. Champaign* v.51, 1974; p.161A-174A.
7. Bau HM, Debry G. Germinated soybean protein products chemical and nutritional evaluation. *J Am Oil Chem Soc. Champaign* v.56, n.3, 1979; p.160-162.
8. Finney PL. Potential for the use of germinated wheat and soybeans to enhance human nutrition. *Adv. Exp. Med Bio, New York*, v.105, 1978; p.681-701.
9. Chang R. Phytate: removal from whole dry beans by enzymatic hidrolisis and diffusion. *J Food Sci. Chicago*, v.42, n.4, 1977; p.1098-1101.
10. Prattley CA, Stanley DW, Vande Voort FR. Protein-phytate interactions in soybeans. II Mechanism of protein-phytate binding as affected by calcium. *J Food Biochem. Trumbull*, v.6, 1982; p255-271.
11. Rackis JJ, Sessa DJ, Hong DH. Flavor problems of vegetable food proteins. *J. Am Oil Chem Soc. Champaign*, v.56, n.3, 1979; p262-271.
12. Bressani R. Effect of chemical changes during storage and processing on the nutritonal quality of common beans. *Food Nutr Bull. Tokyo*, v.5, n.1, 1983; p23-34.
13. Abdullah A, Baldwin RE, Minor H. Germination effects on flatus-causing factors and antinutrients of mung beans and two strains os small-seeds soybeans. *J Food Prot. Ames*, v.47, n.6, 1984; p441-444.
14. Mostafa MM, Rahma EH. Chemical and nutritional changes in soybean during germination. *Food Chem, Essex*, v.23, 1987; p.257-275.
15. Beléia A, Ida EI, Lethi TT. Distribuição de fósforo e ácido fítico durante o processamento de extrato hidrossolúvel de soja. *Arq. Biol. Tecnol. Curitiba*, v.33, n.4, 1990; p623-629.
16. Chen LH, Wells CE, Fordham JR. Germinated seeds for human consumption. *J Food Sci, Chicago*, v.40, 1975; p.1290-1294.
17. Danisová C, Holotnáková E, Hozová B, Buchtová V. Effect of germination on a range of nutrients of selected grains adn legumes. *Acta Alimentaria. Budapeste*, v.23, n.3, 1994; p287-298.
18. Jiménez MJM, Elías LG, Bressani R et al. Estudios bioquímicos y w nutricionales de la semilla germinada de soya. *Arch Latinoamer Nutr*. v.35, n.3, 1985; p481-490.
19. Labouriau LG. A germinação das sementes. Washington: Secretaria Geral da Organização dos Estados Americanos, 1983.
20. Chen PS, Toribara TTY, Warner H. Microdetermination of phosphorus. *Anal Chem. Washington*, v.28, n.11, 1956; p.1756-1758.
21. Lee CK, Karunanithy R. Effects of germination on the chemical composition of *Glycine* and *Phaseolus* beans. *J Sci Food Agric. Essex*, v.51, 1990; p437-445.
22. Khader V. Nutritional studies on fermented, germinated and baked soya bean (*Glycine max*) preparations. *J Plant Foods. London* v.5, 1983; p31-37.
23. Ahn B, Yang CB. Effects of soaking, germination, incubation and autoclaving on phytic in seeds. *Korean J. Food Sci Technol. (S.I.)* v.17, n.4, 1985; p516-521.
24. Giri J, Parvatham R, Santhini K. Effect of germination on the levels of pectins, phytins and minerals in three selected legumes. *Ind J Nutr Diet. Coimbatore*, v.18, 1981; p87-91.

Recibido: 09-07-1996

Aceptaado: 14-08-1997

Concentrado proteico de *Amaranthus mantegazzianus*. Caracterización físico - químico - biológica

Norma de Luquez, Silvia Fernández, Mirta L. de Arellano y Sara I. de Mucciarelli

Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia. Universidad Nacional de San Luis, República Argentina.

RESUMEN. Este estudio tuvo como finalidad obtener un concentrado proteico (CP) de harina de semillas de *A. mantegazzianus* y someterlo a estudio: composición química porcentual, propiedades funcionales y calidad biológica de la proteína. Para ellos se fijaron las condiciones óptimas de obtención de CP: pH de máxima solubilidad 11,5, pH de mínima solubilidad 5, relación harina/solvente 1:20, tiempo de agitación 1 hora 30 min. a temperatura ambiente. Se obtuvo un producto cuyo contenido proteico fue 55,3 g/100 g. Las propiedades funcionales fueron evaluadas a través de: índice de solubilidad de nitrógeno (ISN), el que arrojó un dato de 94,9% a pH 11,5; actividad de emulsificación (AE) con un valor de $47 \pm 4,8$; capacidad de absorción de agua (CAA) igual a $2,1 \pm 0,3$; capacidad de absorción de aceite (CAAc) con un resultado de $0,8 \pm 0,1$. Se calculó el índice de absorción de agua y aceite (IAAAc) como CAA/CAAc resultando un valor de 2,6. Estos resultados califican al producto como útil para panificación por su alta solubilidad, capacidad de absorción de agua y por el valor de IAAAc que revela características hidrolíficas. La calidad biológica del CP fue estudiada mediante la determinación de utilización proteica neta (NPU), con valor de $64 \pm 7,4$, digestibilidad verdadera (tD) $88 \pm 7,6$, valor biológico (BV) igual a 73, ingesta (I) de $74 \pm 8,9$ y una ganancia de peso (ΔP) de $23 \pm 4,5$. Los valores obtenidos en la evaluación biológica de la proteína nos revelan un buen aprovechamiento nitrogenado, lo que conjuntamente con la caracterización funcional nos permiten inferir que el CP de *A. mantegazzianus* resulta un buen recurso para enriquecer productos de panificación, elaboración de dietas para regímenes especiales y complemento proteico de alimentos deficientes.

Palabras clave: Concentrado, calidad biológica, NPU, BV.

SUMMARY. Protein concentrate from *Amaranthus mantegazzianus*. Physicochemical - biological characterization.

The aim of this study was the obtainment of a protein concentrate (PC) from *A. mantegazzianus* seed powder and the evaluation of its percentual chemical composition, functional properties and biological protein quality. For this purpose, the optimal PC conditions assessed were: pH values for maximal and minimal solubility 11,5 and 5 respectively; flour/solvent ratio 1:20, stirring time 1,30 h at room temperature. A product exhibiting a protein content value of 55,3 g/100 g was obtained. The functional properties were evaluated by means of the following indexes Nitrogen Solubility Index (NSI) 94,9% at pH 11,5; emulsification activity (EA) $47 \pm 4,8$; water absorption capacity (WAC) $2,1 \pm 0,3$ and oil absorption capacity (AOAC) $0,8 \pm 0,1$. The water and oil absorption index (WOAI) expressed as WAI/OAI was 2,6. These results render the product useful for bread baking due its high solubility, water absorption capacity and the OAI value which shows hydrophilic characteristics. The PC biological quality were calculated determining the net protein utilization (NPU): $64 \pm 7,4$, true digestibility (tD): $88 \pm 7,6$, biological value (BV): 73, intake: (I) $74 \pm 8,9$ and weight gain (ΔP) $23 \pm 4,5$. The results of this study show a good nitrogen utilization, which plus the functional characterization let us infer that the *A. mantegazzianus* PC constitutes a good resource for the enrichment of bread baking products, preparing of diets for special regimens and protein complement for deficient foods.

Key words: Concentrate, biological quality, NPU, BV.

INTRODUCCION

Los amarantos fueron una cosecha de consumo general de los Aztecas, Mayas, Incas y otros pueblos precolombinos. Son más de 60 especies diferentes del género *Amaranthus* que crecen en el mundo, la mayoría son considerados malezas. No son un cereal verdadero, los granos de amarantos tienen características similares a la de los granos de cereal y a menudo son llamados pseudocereales (1). El propósito de la presente investigación fue: obtención de concentrado proteico a partir de harina de semillas de *A. mantegazzianus*, su caracterización físico-química y el estudio de la calidad proteica del mismo.

MATERIALES Y METODOS

Materiales: Se usaron semillas de *A. mantegazzianus*, secadas en estufa de aire forzado a 50 °C; durante 48 horas, el material se sometió a molienda en molinito de café y tamizado por tamiz de nylon de 200 μ m de abertura. Se obtuvo una harina de color pardo claro, ligeramente amarillento, con un contenido proteico de 13,2 g/100 g.

Obtención del concentrado proteico (CP): La dispersión acuosa de la harina fue sometida al estudio de la influencia del pH sobre la solubilidad de la proteína de la harina de *A. mantegazzianus*, en un intervalo de pH de máxima solubilidad

de 11,5 y el de mínima de 5, tiempo de agitación 1 hora 30 minutos (2). Al realizar el estudio de la relación harina/solvente se obtuvo el máximo rendimiento en la relación 1:20, se siguió el proceso determinando el nitrógeno en las distintas alícuotas. Fijadas las condiciones óptimas se procedió a obtener el CP, logrando la mayor recuperación de la proteína a pH 5, el cual fue secado a una temperatura de 40-45 °C en estufa con corriente de aire forzado durante 48 hs.

Métodos analíticos: En CP se determinaron: humedad, cenizas, fibra cruda, extracto etéreo por métodos del AOAC (3). La concentración de proteína fue evaluada por el método de Kjeldhal, modificado por Winkler (4).

Pruebas funcionales: Se determinó el índice de solubilidad de la proteína (INS) según el pH (5), (6), actividad de emulsificación (AE) (7), capacidad de absorción de agua (CAA) de acuerdo a Torgersen y Toledo (8) y capacidad de absorción de aceite (CAAc) (9). Se calculó el índice de absorción de agua y aceite (IAAAC) como el cociente entre CAA/CAAc (10).

Ensayos biológicos: Las pruebas consistieron en utilización proteica neta (NPU) (11). La digestibilidad verdadera (tD) se determinó conjuntamente con NPU. El valor biológico (BV) se obtuvo por cálculo de NPU/tD.

Se usaron ratas de cepa Wistar de 30 días de edad. Para el material ensayado se trabajó con dos grupos de 4 ratas con diferencia de peso $\pm 0,5$ g. paralelamente se llevó un grupo de 4 ratas alimentadas con dieta libre de proteínas. Las ratas fueron alojadas en jaulas individuales, agua y ración *ad libitum*. Las dietas se prepararon de acuerdo a Sambucetti y col (12).

El aporte proteico (10%) en la prueba experimental fue proporcionado por el material ensayado. Se llevó registro de ingesta (1) y ganancia de peso (ΔP).

RESULTADOS Y DISCUSION

Sometido a análisis el CP (Tabla 1), se obtuvo una concentración proteica de 55.3 g/100 g, algo menor que lo informado para CP de soja por Kopsic y col. (13), siendo el porcentaje de recuperación de proteína del 60,32%.

En la Tabla 2, se da cuenta de los resultados obtenidos en el estudio de propiedades funcionales. Es destacable la solubilidad del CP a pH 11,5 (94,9%) lo que valoriza el producto para su utilización en panificación. Se obtuvo una AE de 47, algo menor al valor reportado para harina de soja (14). Para CAA se obtuvo un valor de 2,1, similar al de harina de soja (15), lo que indica la afinidad de la proteína por el agua CAAc es un valor bajo lo que muestra características hidrofílicas, que como señalamos anteriormente es importante en panificación.

TABLA 1
Composición química del CP de *A. mantegazzianus*

	g/100 g
Proteína (N x 6,25)	55,3
Humedad	3,8
Extracto etéreo (éter de petróleo)	7,6
Fibra cruda	5,7
Cenizas	1,9
Carbohidratos totales (1)	25,7

(1) Por diferencia

TABLA 2
Propiedades funcionales del CP de *A. mantegazzianus*

ISN	94,9 %
AE	47 \pm 4,8 (1)
CAA	2,1 \pm 0,3
CAAc	0,8 \pm 0,1
IAAAC	2,6

(1) X \pm DE

ISN: Índice de solubilidad de Nitrógeno a pH 11,5

AE: Actividad de emulsificación

$$*AE = \frac{\text{Peso de la emulsión}}{\text{Peso del fluido}} \times 100$$

CAA: Capacidad de absorción de agua, expresado en ml. agua/g Proteína

CAAc: Capacidad de absorción de aceite, expresado en ml aceite/g Proteína

IAAAC: Índice de absorción de agua y aceite, expresado como la razón ml agua/ml aceite

TABLA 3
Calidad biológica de la proteína del CP de *A. mantegazzianus*

	Fuente proteica	
	Caseína	CP <i>A. mantegazzianus</i>
NPU	72 + 6,5	64 \pm 7,4 (1)
tD	95 \pm 11,0	88 \pm 7,6
BV	76	73
I*	85 \pm 11,0	74 \pm 8,9
ΔP^{**}	30 \pm 4,1	23 \pm 4,5

(1) X \pm DE

* Ingesta por rata en 10 días de experiencia, expresado en g

** Aumento de peso por rata en 10 días de experiencia, expresado en g

La Tabla 3 informa de la calidad proteínica. El CP de *A. mantegazzianus*, tiene muy buen aprovechamiento nitrogenado con un NP de 64, si se compara este valor con el de la caseína obtenido por nosotros (72) y considerando ese valor como 100%, el CP aquí estudiado es aprovechado en un 88,8%.

CONCLUSIONES

Del resultado integral de este estudio se concluye que el CP de *A. mantegazzianus*, es un producto que puede ser utilizado como complemento de cereales y de otros alimentos deficientes en proteínas. Se deducen amplias perspectivas para su utilización futura en la alimentación a través de productos de panificación y en la elaboración de alimentos para regímenes especiales.

REFERENCIAS

1. Breene WM. Food uses of grain Amaranth. *Cereal Foods World*, 1991;36:426-430.
2. Nilo Rivas R, Dench JE & Caygill JC. Nitrogen extrability of sesame (*Sesamum indicum* L.) seed and the preparation of two protein isolates. *J Sci Food Agric* 1981;32:565-571.
3. Association of Official Analytical Chemists. *Official Methods of Analysis of the AOAC*, 15th. Edited by Kenneth Helrich; Virginia 22201. USA, 1990.
4. Jacobs MB. *The Chemical Analysis of Food and Food Products*. N.Y. Ed. Krieger Publishing Co. Inc 1973; p.34.
5. Kinsella JE. Functional properties of soy proteins. *J. Am. Oil Chemists Soc.* 1979; 56:242-258.
6. Johnsonn DW. Functional properties of oilseed proteins *J. Am Oil. Chemists Soc.* 1970;447:402.
7. Yasumatsu K, Sawada K, Moritaka S, Misaki M, Toda J, Wada T & Ishii K. Whipping and emulsifying properties of soybean products. *Agr Biol Chem* 1972; 36:719-727.
8. Torgersen H & Toledo R. Physical properties of protein preparations related to their functional characteristics in comminuted meat systems. *J Food Sci* 1977; 42:1615-1620.
9. Kanterewicz RJ, Pilosof AM & Bartholomai GB. A simple method for determining the spontaneous oil absorption capacity of proteins and the kinetics of oil uptake. *J Am Oil Chem Soc* 1989; 66:809-812.
10. Kanterewicz RJ, Elizalde BE, Pilosof AM & Bartholomai GB. Water oil absorption index (WOAI): A simple method of predicting the emulsifying capacity of food proteins. *J Food Sci* 1987; 52:138-1384.
11. Miller DS & Bender AE. The determination of the net utilization of proteins by a shortened method. *Brit J Nutr* 1955;9:382-388.
12. Sambucetti ME, Gallegos G, Sanahuja J.C. Estudio de la proteína extraída de lino. Valor nutritivo e inocuidad. *Arch Latinamer Nutr* 1973; 23:76-94.
13. Kopsic T y Sagula AR Soja. Obtención de concentrado de proteínas, aislada y proteinato sódico, usando harina de extracción nacional. Buenos Aires. Ediciones del Instituto Argentino de Grasas y Aceites. 1977; 1-7.
14. Dench JE, Nilo Rivas R & Caygill JC. Selected functional properties of sesame (*Sesamum indicum* L) flour and two proteins isolates. *J Sci Food Agric* 1981; 32:557-564.
15. Delahaye EP. Concentrados proteínicos de palma africana (*Elaeis guineensis*, Kacquin) Proceso de extracción y propiedades funcionales. *Arch Latinamer Nutr* 1985; 35:509-517.

Recibido: 10-01-1997

Aceptado: 25-09-1997

Efecto de adición de sal, tipo de corte y temperatura inicial de cocción sobre el contenido de proteínas y lípidos en caldos de carne: I. Carne de vacuno

Zaida Gotera-Prado¹, Jorge B. Quintero¹, Nelson Huerta-Leidenz² y Zaida Prado Gotera¹

RESUMEN. Se determinó el contenido de proteínas y de grasas, en caldos de carnes de vacuno categoría "C" provenientes de los cortes denominados falda y lagarto, obtenidos por cuadruplicado, sin y con la adición de 7 g de sal por litro de agua, a las temperaturas iniciales de 25, 50, 75 y 100°C para examinar los efectos individuales o combinados de los factores de extracción. El efecto de corte ($P < 0,05$) mostró escasa diferencia (40 mg/ 100 mL de caldo) en contenido proteico a favor de la falda, pero su contenido graso (0,39 g/100 mL de caldo) fue triplicado por el de lagarto. No hubo una relación lineal de la temperatura de cocción con la cantidad de componentes extraídos del corte, pero fue clara la mayor extracción de proteína a ebullición. En general, la adición de sal redujo a la mitad el contenido graso de los caldos pero la interacción sal x corte mostró que el efecto reductor de la grasa fue significativo solo en lagarto. La misma interacción mostró una reducción de la proteína extraída de la falda con la adición de sal, no así del lagarto. El estudio demuestra que en ebullición y con sal se obtiene el mayor contenido proteico con un mínimo de grasa en el caldo, particularmente utilizando carne de lagarto.

Palabras clave: Adición, cloruro de sodio, vacuno, procesos térmicos, caldos, sal, falda, lagarto.

SUMMARY. Effects of salting, cut type, and simmering temperature on protein and fat contents of meat broths. I. Beef.

A 2 x 2 x 4 factorial design was used to study variation of protein and fat contents in beef broths as affected by cut type (flank, shank), salt treatments (addition of salt to the medium, no salt), and initial temperatures of simmering (25, 70, 75, and 100 °C). Flank portions yielded slightly more protein (0.29 g/100 mL) and had three-fold less fat (0.39 g/mL) than those of shank (0.25 and 1.12 g/mL, respectively) ($P < 0.05$). No linear relationship of temperature and amount of extractable components was observed, but it was clear that the greatest protein extraction was accomplished when meat was immersed in cooking water at boiling point ($P < 0.05$). In general, salting of water reduced fat content of beef broths. However, a significant Salting x Cut type interaction showed this effect was only present in shanks ($P < 0.05$). Conversely, the reducing effect ($P < 0.05$) of salting on amount of protein extracted from flank was not observed in shanks. Based on these data, we conclude that larger amounts of protein and less fat could be transferred from meat pieces to the medium by immersing beef in salted water at the boiling point. Key words: Sodium chloride, beef broth, thermal process, salt, flank, shank.

INTRODUCCION

La necesidad de retener al máximo los nutrientes en las preparaciones culinarias, requiere seleccionar la técnica de cocción más adecuada para cada caso. Si se dispone de un alimento cárnico, se presentan dos opciones: retener los nutrientes en la masa del alimento o permitir que los nutrientes pasen al medio de cocción. Cualesquiera que sea la opción que se decida adoptar, es necesario conocer la técnica que permitirá obtener el resultado deseado. Las técnicas empleadas comúnmente en la cocción en agua son: (a) sumergir el alimento en el agua antes de que ésta alcance la temperatura de ebullición, o (b) agregar el alimento al agua cuando ésta haya

alcanzado la temperatura de ebullición (1). El grado de difusión de los componentes del alimento en cada caso, no está claramente definido, existiendo opiniones empíricas contradictorias; sin embargo, prevalece la idea en los textos (1, 2, 3, 4) que la cocción realizada aplicando la segunda técnica mencionada disminuye la difusión de los nutrientes del alimento hacia la fase acuosa

Es ampliamente conocido que los tratamientos térmicos de las carnes, provocan cambios notables en la estructura proteica, por desnaturalización y coagulación de las proteínas, lo cual se manifiesta en cambios de textura sobre todo en la superficie, con pérdida de la capacidad de retención de agua, separación de jugo y pérdida de solubilidad, cuya proporción depende del tiempo y temperatura de calentamiento (5,6,7,8,9,10). La fracción soluble de las proteínas musculares se extrae del músculo con agua o con una solución salina diluida (2,8,9,10). Aunque existen algunas dudas sobre si todas estas proteínas son solubles *in situ*, por lo menos se extraen fácilmente. Las proteínas contráctiles miofibrilares son solubles

1. Universidad del Zulia, Escuela de Nutrición y Dietética. Laboratorio de Investigación en Nutrición
2. Universidad del Zulia, Facultad de Agronomía. Instituto de Investigaciones Agronómicas

en soluciones salinas de elevada fuerza iónica pero resultan insolubles en agua o en soluciones salinas diluidas (2,8,9,10). Los antecedentes (1, 2, 3, 4, 8,9) llevan a pensar que los caldos obtenidos según la técnica de sumergir el corte de carne en el agua antes de que esta alcance la temperatura de ebullición, menores de 50 °C, especialmente con agregado de sal, tienen una concentración mayor de compuestos nitrogenados y lípidos que los caldos obtenidos con la técnica de sumergir el corte de carne en el agua cuando esta ya ha alcanzado la temperatura de ebullición. En los textos consultados (1,2,3,4) los planteamientos arriba formulados no tienen apoyo experimental reciente. Existe abundante literatura (1,2,4,8,9,10,11) acerca de los efectos del calor sobre la composición nutritiva de la carne pero no así del caldo. La poca información disponible reciente en caldos sin sal de carne de vacuno ha sido originada en Argentina (12). El presente experimento tuvo como objetivo determinar el contenido de proteína y grasa crudas en caldos de carne vacuna examinando los efectos individuales o combinados de tipo de corte, temperatura inicial de cocción y adición de sal; con el fin de establecer su utilización como ingrediente base para otras preparaciones sólidas o líquidas de acuerdo a la prescripción dietética.

MATERIAL Y METODOS

Muestreo. La muestra estuvo conformada por piezas de carne de res, despostadas de canales vacunas categoría C, según el sistema de clasificación venezolano de canales vacunas (13) utilizándose los cortes de carnicería denominados falda (músculos abdominales) y lagarto sin hueso (flexores y extensores de la pierna), en la terminología oficial venezolana de cortes del vacuno (14). Estos cortes son los de mayor uso en la tradición culinaria del venezolano para la preparación de caldos de res, por su relativa magrez y bajo costo. La clase de animales que entran en la categoría C del sistema de clasificación venezolano de canales vacunas son mayormente vacas de edad avanzada, mayores de 42 meses de edad. Los cortes fueron adquiridos frescos en una carnicería local, ubicada en el Municipio Maracaibo del Estado Zulia, llevados al Laboratorio de Bromatología y Tecnología de Alimentos de la Escuela de Nutrición y Dietética de LUZ, y pesados en porciones de forma y tamaño similar (exactamente 200 g) atendiendo a las características físicas de los cortes y siguiendo las técnicas culinarias para cada tipo de carne (15). Se empacaron en bolsas plásticas herméticas y fueron congelados a -10 °C hasta su preparación para la cocción, la cual se efectuó en un máximo de una semana a partir de su fecha de adquisición.

Material. Para la cocción se utilizaron ollas de aluminio galvanizado sin tapas de 3,2 L de capacidad (13,5 cm. de alto x 17,5 cm. de diámetro) y la temperatura se midió con termómetro de mercurio con cubierta de vidrio de -10 a 260 °C (marca Lynare, USA).

Método: Cocción. Para cada porción de carne (200 g) se

utilizaron 1,5 litros de agua como volumen inicial. La concentración de sal para los caldos salados fue de 7 g por L en todos los casos. Esta cantidad de alimento, agua y sal, son medidas de peso y volumen ampliamente utilizadas en las preparaciones de alimentos que se realizan en la Cátedra de Técnica Dietética de la Universidad del Zulia. Las temperaturas iniciales del agua de cocción fueron de 25, 50, 75 y 100°C. La obtención de los caldos sin y con adición de sal se realizó por cuadruplicado en cada una de las temperaturas utilizadas. Las porciones de los cortes fueron descongeladas previamente a 8°C durante 9 h en una refrigeradora doméstica, dando un total de 16 muestras de carnes por tratamiento de sal, de donde se obtuvieron, por consiguiente, 32 caldos para un mismo tipo de corte, 16 caldos sin adición de sal y 16 caldos con adición de sal. El tiempo de cocción se contó a partir de la inmersión de la porción de carne en el agua y a la temperatura que se estudiaba, hasta la finalización del calentamiento, a un tiempo de cocción de 60 minutos. Las temperaturas se determinaron con termómetro de mercurio con cubierta de vidrio de -10 a 260°C (marca Lynare, USA), introduciendo la porción de carne en el agua en el momento en que ésta presentaba la temperatura requerida para el estudio. Después de la cocción los caldos se enfriaron a temperatura ambiente. Previa agitación, se tomaron 2 porciones de 2 mL cada una a partir de cada uno de los caldos, las cuales se usaron para la determinación de proteína. Del resto del caldo se trasvasaron porciones de 200 mL aproximadamente, a un embudo de separación previo filtrado con papel de filtro Whatman No. 1 con el fin de retener las partículas sólidas. Esto se hizo repetidamente hasta agotar el caldo y se procedió a lavar con agua caliente el recipiente donde se preparó el mismo, para arrastrar el resto de sebo que quedó adherido a sus paredes. El agua caliente utilizada para el desgrase del recipiente, también se trasvasó al embudo de separación. El residuo depositado en el papel de filtro se lavó con 200 mL de éter de petróleo se recibió en el mismo embudo. Cada porción contenida en el embudo de separación se decantó hasta la separación total de la grasa y las porciones no grasas se recogieron en un vaso de precipitados. La fracción etérea se decantó y se pasó por un embudo con papel de filtro nuevo, el cual contenía 5 g de Na₂SO₄ y se recibió en un matraz previamente tarado para las determinaciones de grasa, por separación del solvente en un rotaevaporador.

Se utilizó esta metodología en la valoración de la grasa, debido a que la descrita en la AOAC (16) no es aplicable a muestras líquidas heterogéneas, tal como se presentan las muestras de este estudio, lo que conllevó a utilizar toda la cantidad de caldo para extraerle la grasa y finalmente recolectar todos los extractos etéreos, evaporar y pesar los residuos grasos.

Análisis químico. La determinación de proteína se repitió 8 veces y la de grasa, 4 veces, para cada muestra de corte, en cada temperatura y para cada tratamiento de sal. Para determinar el contenido de nitrógeno, de cada alícuota de la

fracción no grasa del caldo, se aplicó el método de Kjeldahl (16), multiplicando por 6,25 para determinar el contenido de proteína cruda. La grasa se cuantificó mediante la extracción con éter de petróleo antes descrita. Todos los reactivos utilizados fueron marca Merck, grado analítico. Los resultados de contenido graso y de proteína se expresaron en gramos por 100 mL de caldo.

Análisis estadístico. Se realizó un análisis de varianza sobre los datos de contenido de proteína y grasa crudas como un arreglo factorial completamente al azar ($2 \times 4 \times 2$) para los factores tipo de corte, temperatura de cocción y tratamiento de sal, con cuatro repeticiones y sus respectivas interacciones. Cuando el análisis de varianza detectó efecto significativo ($P < 0,05$) de tratamiento, se procedió a la separación de pares de medias de cuadrados mínimos mediante el procedimiento de modelo lineal general (GLM) del paquete estadístico SAS(17). Ante la presencia de interacciones significativas cruzadas, los efectos independientes no fueron informados.

RESULTADOS Y DISCUSION

El análisis de varianza detectó efectos de corte, adición de sal y temperatura inicial así como algunas interacciones de estos factores sobre la composición de los caldos.

Efectos de corte. La Tabla 1 muestra las medias cuadráticas generales del contenido de proteínas y grasa, respectivamente, en los caldos de carnes de falda y lagarto. Las medias muestran un contenido ligeramente mayor de proteína cruda en caldos de falda, pero su contenido de grasa es casi triplicado por el caldo de lagarto. De acuerdo a la Tabla de Composición de Alimentos del INN (18), la diferencia de contenido de proteínas entre estos cortes es apenas de 0,1% (20,6% falda y 20,5% lagarto) mientras que el contenido graso del lagarto es menor (0,2%) al de la falda (0,9%), lo cual contradice lo observado en este experimento. Los cortes Flanco y Jarrete para buey semigraso, en la traducción española del trabajo de Blegen y Damm (11) pueden ser equivalentes a falda y lagarto, respectivamente y muestran la misma tendencia en composición para los dos cortes. En general, los valores de proteína son algo inferiores al informado por el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (0,52 g/100g) para caldos de vacuno deshidratados preparados con agua, mientras que los contenidos de grasa son superiores al de este informe (0,29 g/100g) (19).

Efecto de temperatura inicial de cocción. La Tabla 2 muestra las medias y errores estándar para el contenido de proteínas en caldos cuya cocción se inició a diferentes temperaturas. El contenido de grasa estuvo condicionado a otros factores según lo señalado por las interacciones, que se discutirán más adelante. En general, se observa un comportamiento errático del contenido proteico, marcado por altibajos con los sucesivos incrementos de temperatura inicial. Sin embargo, es clara la mayor extracción de proteína en aquellos caldos cuya cocción se inició a la temperatura mas alta (100 °C), con

diferencias que oscilaron entre 60 y 110 mg/L ($P < 0,05$) con respecto a temperaturas iniciales más bajas de cocción. Estos resultados no concuerdan con lo sostenido por otros autores (2,3) quienes indican que, si la carne se introduce en agua hirviendo, las proteínas de la superficie se coagulan, ocurre una deshidratación, y se forma una capa externa que tiende a retrasar la difusión del jugo de la carne y sus componentes solubles, resultando así una carne de sabor más agradable, pero un caldo insípido y poco concentrado.

TABLA 1
Contenido de proteínas y grasas en caldos de carne de vacuno según tipo de corte

Tipo de corte	Proteínas (g/100 mL de caldo)		Grasa (g/100 mL de caldo)	
	Media	ES	Media	ES
Falda	0,29	±0,013	0,39	±0,10
Lagarto	0,25	±0,013	1,12	±0,11
Diferencia entre cortes	0,04		0,73	

Proteínas: $P < 0,05$

Grasas: $P = 0,0001$

TABLA 2
Contenido de proteínas en caldos de carne de vacuno de acuerdo a las temperaturas iniciales de cocción

Temperatura inicial de cocción °C	Proteínas (g/100 mL de caldo)	
	Media	ES
25	0,25	±0,018 ab
50	0,27	±0,017b
75	0,22	±0,017a
100	0,33	±0,019c

a,b,c, Medias con letras distintas son diferentes significativamente ($P < 0,05$)

Efecto de la adición de sal. La Tabla 3 muestra las medias cuadráticas para contenido de grasa en caldos de acuerdo al tratamiento de sal. Prácticamente, la adición de sal redujo a la mitad el contenido graso de los caldos. El efecto de la sal sobre el contenido de proteínas estuvo interactuando con otros factores y se discutirá mas adelante. Se ha informado que la adición de sal favorece la dispersión de las proteínas y dificulta la extracción de grasa, porque no hay un agente emulsionante (20).

Interacción tipo de corte x adición de sal. La Tabla 4 muestra las medias de contenido de proteína y grasa para el tipo de corte de acuerdo a la adición o no de sal. Se observa en el contenido de proteínas, que mientras el caldo de lagarto contiene cantidades constantes ($P > 0,05$), con la tendencia a

una mayor extracción de las mismas con sal, el salado redujo la proteína extraída en caldos de falda. Los resultados con falda sorprenden ya que las soluciones salinas facilitan la extracción de proteínas, principalmente la fracción soluble de las proteínas musculares cuando se utilizan salmueras diluidas (9).

TABLA 3
Contenido de grasa en caldos de carne de vacuno de acuerdo a la adición o no de sal

Tratamiento de sal	Grasa (g/100 mL de caldo)	
	Media	ES
Sin sal	1,01	±0,10
Con sal	0,50	±0,11
Diferencia entre tratamiento	0,51	

P < 0,05

TABLA 4
Contenido de proteínas y grasas en caldos de carne de vacuno de acuerdo al corte y tratamiento de sal

Tipo de corte	Proteínas (g/100 mL de caldo)				Grasas (g/100 mL de caldo)			
	Sin sal		Con sal		Sin sal		Con sal	
	Media	ES	Media	ES	Media	ES	Media	ES
Falda	0,32	±0,02c	0,25	±0,02ab	0,33	±0,15x	0,45	±0,15x
Lagarto	0,21	±0,02c	0,29	±0,02bc	1,69	±0,15y	0,56	±0,15x

a,b,c Medias con letras distintas para contenido de proteínas son diferentes significativamente (P < 0,05)

x,y Medias con letras distintas para contenido de grasas son diferentes significativamente (P < 0,05)

En el contenido graso es de notar que las diferencias estadísticas (P < 0,05) de contenido graso entre caldos sin sal de diferentes cortes se hacen insignificantes (P > 0,05) con la adición de sal. En los caldos de falda no varió con el tratamiento de sal, mientras que en caldos de lagarto la sal redujo tres veces el contenido de grasa, lo cual señala la tendencia observada en la Tabla 4 y se corresponde con lo informado por otros autores (20).

Efecto de la interacción tratamiento de sal x temperatura inicial de cocción. En la Tabla 5 se muestran las medias cuadráticas para el contenido de proteínas y grasas afectado por esta interacción. Para las proteínas se consigue que entre los caldos iniciados a diferentes temperaturas de cocción, sin sal no hay diferencias (P > 0,05), lo cual coincide con lo informado por Borell (12). Con excepción de la temperatura máxima, la adición de sal redujo el contenido proteico de los caldos. Con sal, a la temperatura máxima de cocción se obtiene un contenido proteico 1,5 a 2 veces superior al logrado con temperaturas más bajas. Esto contradice lo afirmado por otros

autores (1,2,3,4) que sostienen que cuando se inicia la cocción a temperatura de ebullición y con sal, se produce coagulación de las proteínas y cierta retracción en la superficie de la pieza cárnica, con retención máxima de las sustancias solubles, resultando un caldo menos enriquecido que cuando la cocción se inicia en agua a baja temperatura con sal, donde las proteínas solubles y sustancias extractivas van pasando al medio de cocción antes de alcanzar una temperatura de 45 °C (1).

TABLA 5
Contenido de proteínas y grasas en caldos de carne de vacuno, sin y con adición de sal, a diferentes temperaturas iniciales de cocción

Temp.inicial de cocción °C	Proteínas (g/100 mL de caldo)				Grasas (g/100 mL de caldo)			
	Sin sal		Con sal		Sin sal		Con sal	
	Media	ES	Media	ES	Media	ES	Media	ES
25	0,27	±0,03ab	0,24	±0,02ab	0,94	±0,21xy	0,38	±0,21x
50	0,29	±0,02a	0,26	±0,02ab	0,47	±0,21x	0,67	±0,21xy
75	0,24	±0,02ab	0,20	±0,02a	1,11	±0,21yx	0,55	±0,21xy
100	0,26	±0,03ab	0,39	±0,03c	1,52	±0,21z	0,42	±0,22x

a,b,c Medias con letras distintas para contenido de proteínas son diferentes significativamente (P < 0,05)

x,y,z Medias con letras distintas para contenido de grasas son diferentes significativamente (P < 0,05)

El efecto de esta interacción sobre el contenido de grasa revela que con sal existe una variabilidad insignificante (P > 0,05) que no permite delinear tendencias para las temperaturas de cocción. Sin sal, las mayores temperaturas de cocción, permitieron un mayor contenido graso en caldo. Se sabe que el tejido adiposo esta envuelto por tejido colagenoso, que al solubilizarse por el calor, permite la liberación de la grasa (7, 21). Con la ruptura de la membrana, la grasa fundida escapa de las células por los cambios sufridos durante la cocción (21) y se une al colágeno solubilizado (7). Queda claro que la mejor extracción de grasa lograda sin la sal, de la carne hacia el caldo, a bajas temperaturas, se exagera con la ebullición. El contenido graso en caldo hervido (100 °C) sin sal fue 3,6 veces mayor (P < 0,05) al obtenido con sal.

Efecto de la interacción tipo de corte x temperatura inicial de cocción x tratamiento de sal sobre el contenido de proteína. La Tabla 6 presenta las medias cuadráticas de contenido proteico para la triple interacción. Es de notar que en los cortes de falda a cualquier temperatura inicial de cocción, la sal tiende a reducir la salida de proteínas al caldo pero las diferencias no son significativas (P > 0,05). En caldo de lagarto, sucede lo contrario (con excepción de la temperatura de 25 °C) y la elevación del contenido proteico en el caldo se hace significativa a la máxima temperatura de cocción. El efecto combinado de la ebullición con la sal en caldo de

lagarto, arroja el máximo contenido de proteínas logrado entre las diferentes combinaciones de tratamientos.

TABLA 6

Contenido de proteínas en caldos de carne de vacuno sin y con agregado de sal, a diferentes temperaturas iniciales de cocción por tipo de corte

Tipo de corte	Temperatura °C	Proteínas (g/100 mL de caldo)			
		Sin sal		Con sal	
		Media	ES	Media	ES
Falda	25	0,31	±0,03 de	0,27	±0,03 abcde
	50	0,33	±0,03 e	0,24	±0,03abcde
	75	0,31	±0,03 de	0,20	±0,03 abc
	100	0,34	±0,04 e	0,29	±0,03 cde
Lagarto	25	0,22	±0,04 abcd	0,20	±0,03 abc
	50	0,25	±0,03 abcde	0,28	±0,03 bcde
	75	0,18	± 0,03 a	0,20	±0,03 abc
	100	0,19	±0,03 ab	0,49	±0,04 f

a,b,c,d,e,f Medias con letras distintas difieren significativamente (P < 0,05).

CONCLUSIONES

- No es posible relacionar linealmente el efecto de la temperatura inicial de cocción, con los contenidos de proteínas y de grasa en los caldos de carne vacuna.
- La grasa extraída en los caldos sin sal a la máxima temperatura inicial fue bastante mayor a la extraída con sal a la misma temperatura, mientras que la extracción de proteínas tuvo un comportamiento opuesto.
- El efecto de corte fue más manifiesto en la composición grasa de los caldos, en cuanto a que los caldos derivados de carne de lagarto tuvieron un mayor contenido graso que los de falda independientemente de los tratamientos utilizados en su preparación.
- El estudio demuestra que el mayor contenido proteico en el caldo, se obtuvo utilizando lagarto, agregando sal y sumergiendo la carne en agua hirviendo.

Por tanto, dependiendo del tipo de caldo que se quiera obtener, es conveniente establecer las condiciones de preparación del mismo.

AGRADECIMIENTO

A la Prof. Belkis Bracho, de la Facultad de Agronomía de LUZ por su valioso aporte en el tratamiento estadístico de los datos. Asimismo, al Br. Manuel Pabón y Sr. Anibal Altuve, por la significativa colaboración brindada en la obtención y análisis de las muestras

REFERENCIAS

1. Alvarez N. Fundamentos de Dietología Aplicada. Ediciones Astro Data S.A., Maracaibo, 1984.
2. Price JF y Schweigert BS. Ciencia de la Carne y de los Productos Cárnicos. Editorial Acribia, Zaragoza, 1976.
3. Schmidt-Hebbel H. Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Editorial Universitaria, Santiago de Chile, 1973.
4. Olascoaga J. Dietética. Tomo III, Bromatología, México, D.F., 1975.
5. Hamm R. Heating of muscle systems. Physiology and Biochemistry of Muscle as a Food. E.J. Briskey, R.G. Cassens, and J.C. Trautman (de.). The University of Wisconsin Press. Madison 1966:pp 363-385.
6. Draudt HN. Changes in meat during cooking. Proceedings 25th Annual Reciprocal Meat. Conference of the Am. Meat Sci. Assoc. Iowa State U. Ames. 1972.
7. Paul PC. Influence of Heating Methods. En: Meat. R.A Lawrie (Ed). Westport, Conn. The Avi. Publishing Co. 1975;p403-430.
8. Forrest J et al. Fundamentos de Ciencia de la Carne. Editorial Acribia, Zaragoza, 1979.
9. Fennema OR. Introducción a la Ciencia de los Alimentos. Tomo II, Edit. Reverté S.A., Barcelona, 1982.
10. Lawrie RA. Ciencia de la Carne. Editorial Acribia, Zaragoza, 1974.
11. Niinivaara FP y Antila P. Valor Nutritivo de la Carne. Ciencia y Tecnología de la Carne. Teoría y Práctica. Editorial Acribia, Zaragoza, 1973.
12. Borell MF. Composición química de la carne vacuna sometida a diferentes tratamientos térmicos. Tesis de grado. Universidad Nacional de Salta. Licenciatura en Nutrición y Dietética. Salta, Argentina. 1989.
13. Gaceta Oficial de la República de Venezuela. Decreto No. 181. No. 4.737 Extraordinario. Caracas. 1994.
14. COVENIN. Carne de bovinos-Definiciones e Identificación de las Piezas de una Canal. Norma Venezolana COVENIN. 792-82 C.D.U. 637.51:636.2:0014. Comisión Venezolana de Normas Industriales. Caracas, Venezuela. 1982.
15. de Prado ZG. Aplicación del factor de cálculo al análisis de alimentos de Venezuela. Arch. Latinoamer. Nutr. 1986;36(2): 300.
16. Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis of the A.O.A.C. 15th ed. Washington D.C. The Association. 1990.
17. S.A.S. Statistical Analysis System. User's Guide: Basic. SAS Institute Inc., Cary, NC. 1985
18. INN. Tabla de Composición de Alimentos Para Uso Práctico. Instituto Nacional de Nutrición. Serie Cuadernos Azules No. 50. Caracas. Revisión 1994
19. Anderson BA and Hoke IM. Composition of Foods: Soups, Sauces and Gravies. The 1989 Supplement to the Agric. Handbook No. 8 Series, 90 pp. AH-8-06. U.S. Dept. of Agriculture, Washington, DC. 1989.
20. Wolfe P H. Química General, Orgánica y Biológica. Editorial McGraw-Hill Latinoamericana S.A., Bogotá, 1989
21. Montes L. Bromatología. Tomo I, Editorial Universitaria, Buenos Aires, 1981

Recibido: 02-08-1995

Aceptado: 13-11-1996

Pontos críticos de controle no fluxograma de beneficiamento do leite pasteurizado

Ana Catarina de Souza Lopes¹ & Tânia Lúcia Montenegro Stamford²

Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Brasil

RESUMO. Visando avaliar a qualidade microbiológica do leite cru e pasteurizado e comprovar os pontos críticos de controle numa planta de processamento deste produto, localizada na cidade do Recife-PE, Brasil, foram colhidas 84 amostras do referido produto em quatro pontos do fluxograma de beneficiamento, considerados críticos (tanque de estocagem do leite cru, saída do pasteurizador, tanque de estocagem do leite pasteurizado e saída da máquina do envase). Todas as amostras foram submetidas à contagem de microorganismos mesófilos e psicotróficos, e à determinação do número mais provável (NMP) de coliformes totais e fecais. Além destas análises, foram realizadas a contagem de *Staphylococcus aureus* nas amostras de leite cru e pasteurizado (obtidas na saída da máquina do envase). Paralelamente, foram determinadas: a temperatura de conservação do leite cru e pasteurizado nos tanques de estocagem e o NMP de coliformes totais e fecais na água de abastecimento da indústria. Os resultados das análises microbiológicas no leite cru obtido no tanque de estocagem evidenciaram altos números de microorganismos mesófilos, psicotróficos, coliformes totais, coliformes fecais e *Staphylococcus aureus*, indicando as precárias condições higiênico-sanitárias e de refrigeração durante a produção e o processamento do produto. O processo de pasteurização foi eficaz, pois reduziu o número de microorganismos a níveis aceitáveis pelos padrões brasileiros. Entretanto, os resultados da análise estatística demonstraram que ocorreu um aumento significativo ($p < 0,01$) dos microorganismos no tanque de estocagem do leite pasteurizado, representando um ponto de contaminação importante. Estes achados podem ser atribuídos às inadequadas temperaturas de conservação do leite pasteurizado nos tanques de estocagem e à presença de coliformes em 60% das 21 amostras de água de abastecimento da indústria, que foi utilizada para a lavagem e higienização dos equipamentos. Portanto, de acordo como os resultados das análises microbiológicas podemos comprovar que a conservação do leite cru e pasteurizado nos tanques de estocagem, a pasteurização e o processo de envase são pontos críticos de controle no fluxograma de beneficiamento do leite pasteurizado.

Palavras chave: Leite pasteurizado, leite cru, microorganismos, pontos críticos, envase.

SUMMARY. Critical control points in the pasteurized milk processing fluxogram. With the aim of evaluating the microbiological quality of raw and pasteurized milk and confirm the critical control points in a dairy processing industry (Recife-PE, Brazil), 84 samples of milk were collected from four points of the flow-chart considered critical (raw milk storage tank, outlet of the pasteurizer unit, pasteurized milk storage tank and packing filling machine). All samples were evaluated for the presence of mesophilic and psychrotrophics microorganisms. The most probable number (MPN) of total and faecal coliforms were determined. Samples of raw and pasteurized milk (collected from the packing filling machine) were also assessed for the presence of *Staphylococcus aureus*. The preservation temperature of raw and pasteurized milk in the storage tanks and the MPN of total and faecal coliforms present in the water used by the industry were simultaneously evaluated. High counts of mesophilic and psychrotrophics microorganisms, total and faecal coliforms and *S.aureus* were detect in raw milk production and processing. The pasteurization process reduced the microorganisms to acceptable numbers in the Brazilian standards, however, the statistics analysis showed that the number of microorganisms increased significantly ($p < 0,01$) in the pasteurized milk storage tank, representing an important point of contamination. The probable reason for this finding was the presence of coliforms in 60% samples of water which was used to clean the milk equipments and the inadequate temperatures in the storage tank. Therefore, the results of the microbiological analysis confirm that the milk maintenance temperature in the storage tanks, the pasteurization and the packaging are critical control points in the pasteurized milk processing fluxogram. Key words: Pasteurized milk, raw milk, microorganism, critical control points, packaging.

INTRODUÇÃO

O leite, alimento de valor nutritivo inigualável, é consumido por todas faixas etárias, sob forma fluida ou de seus derivados. No entanto, a elevada disponibilidade de nutrientes, predispõem este produto à rápida proliferação de microorganismos contaminantes, tornando-o altamente perecível.

1. Professora Assistente do Departamento de Medicina Tropical. Area Microbiologia UFPE
2. Professora Adjunta R-4 do Departamento de Nutrição, UFPE.

Nos últimos anos, tem sido relatado em vários países a ocorrência de surtos de toxinfecções alimentares, causados pelo consumo de leite e derivados contaminados por bactérias patogênicas (1,2,3). No entanto, a maioria dos surtos refere-se ao Reino Unido ou aos Estados Unidos da América. No Brasil, praticamente não existem levantamentos epidemiológicos que demonstrem a incidência e gravidade das toxi-infecções de origem alimentar, entretanto, trabalhos científicos têm evidenciado a ocorrência de elevado número de amostras de leite pasteurizado fora dos padrões microbiológicos brasileiros (4,5,6). Estes problemas são atribuídos às deficiências tecnológicas no setor de produção e industrialização, principalmente no que diz respeito aos cuidados higiênicos sanitários, e à inadequada refrigeração a nível de comércio varejista.

Diante do exposto, torna-se evidente a necessidade de um permanente controle higiênico-sanitário do leite para consumo humano durante a produção, industrialização e comercialização, evitando desta forma um produto com números elevados de microorganismos, os quais comprometem as suas propriedades organolépticas e nutritivas, representando também um risco para a saúde do consumidor.

As indústrias de laticínios utilizam uma variedade de medidas efetivas de controle para limitar os riscos de veiculação de doenças por alimentos. Uma das medidas mais usadas é a pasteurização, que segundo a Comissão do Codex Alimentarius, da Organização Mundial de Saúde, é processo aplicado ao leite com a finalidade de reduzir ao mínimo os perigos para a saúde, provenientes dos microorganismos patogênicos associados ao leite (7).

Partindo da constatação de que a pasteurização é incapaz de transformar um leite de má qualidade em um produto de boa qualidade, conclui-se que a qualidade do leite pasteurizado depende da seleção da matéria-prima, da adequada pasteurização e do controle após o tratamento térmico. Constatação que poderá ser comprovada pelo sistema de análise de perigos e pontos críticos de controle (HACCP), que é um método preventivo de controle de qualidade de alimentos, que tem como objetivo a identificação, valorização e controle dos perigos, particularmente os microbiológicos, associados a cada etapa da cadeia alimentar, e a obtenção de um produto com alto grau de qualidade e inocuidade (8).

O Método HACCP tem sido utilizado como um instrumento de controle de qualidade de alimentos em operações industriais (9,10) e principalmente nos estabelecimentos que realizam serviços de alimentação (11,12,13). Trabalhos sobre a aplicação deste sistema no processamento do leite pasteurizado, não têm sido encontrados na literatura. No entanto, a International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF) (14) e Volonterio (15) descrevem a aplicação do método HACCP no processamento do leite cru e certos derivados do leite, como leite Ultra High Temperature (UHT), leite em pó e queijo cheddar.

Tendo em vista a carência de investigações a respeito dos prováveis pontos de contaminação do leite pasteurizado na

indústria, planejou-se o presente estudo com o objetivo de avaliar a qualidade microbiológica deste produto em quatro pontos do fluxograma de beneficiamento, considerados críticos.

MATERIAL E MÉTODOS

Durante o período de agosto de 1994 a janeiro de 1995, foram analisadas, semanalmente, amostras de leite cru e pasteurizado tipo C, obtidas em uma usina de beneficiamento localizada na cidade do Recife-PE, Brasil. O leite cru fornecido à indústria provém de pequenos e médios produtores situados em vários municípios da região agreste do Estado de Pernambuco, de onde é transportado em latões para os entrepostos de refrigeração, e posteriormente, para a plataforma de recepção da usina de beneficiamento, sendo bombeado para os tanques de estocagem onde o produto permanece sob refrigeração por cerca de 20 horas. Em seguida, o leite cru é pasteurizado (75° C/15 segundos) em trocadores de calor em placas e o produto pasteurizado segue imediatamente para os tanques de estocagem onde permanece por cerca de 5 horas, até que seja iniciado o processo de envase.

A análise de perigos e a determinação dos pontos críticos de controle foi realizada após estudo do fluxograma de processamento do leite pasteurizado, segundo os procedimentos recomendados pela ICMSF (14), sendo possível determinar quatro prováveis pontos de contaminação do leite, representados pelo tanque de estocagem do leite pasteurizado e saída da máquina do envase.

Em cada um dos três primeiros pontos do processo foram colhidas, em recipientes estéreis, 21 amostras de 250 ml de leite, e no último ponto, 21 amostras de 1000 ml (embalagem comercial de polietileno), perfazendo um total de 84 amostras. Durante a colheita das amostras nos tanques de estocagem do leite cru e pasteurizado, foi determinada a temperatura do produto com o auxílio de um termômetro. Também foram colhidas, em recipientes estéreis, 21 amostras de 250 ml da água de abastecimento da indústria. Após serem colhidas, todas as amostras foram acondicionadas em caixa de material isotérmico, contendo cubos de gelo, e transportadas imediatamente ao Laboratório de Experimentação e Análise de Alimentos, do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco, onde foram analisadas.

As 84 amostras de leite foram submetidas à contagem padrão de microrganismos mesófilos e psicotróficos, e ao número mais provável (NMP) de coliformes totais e coliformes fecais. As amostras de leite cru e pasteurizado (obtidas na saída da máquina do envase), foram também submetidas à contagem de *Staphylococcus aureus*. A água de abastecimento da indústria foi analisada quanto ao NMP de coliformes totais e fecais. Todas as análises microbiológicas foram realizadas de acordo com os métodos da Food and Drug Administration (16).

A análise de variância foi utilizada para verificar a existência ou não de diferenças significativas entre as amostras de leite pasteurizado analisadas microbiologicamente, obtidas na saída do pasteurizador, no tanque de estocagem e na saída da máquina do envase. Nos casos em que foram constatadas diferenças, foi aplicado o teste de contraste de Tukey para analisar a significância da contagem de microorganismos mesófilos e psicotróficos (UFC/ml), e do número mais provável (NMP/ml) de coliformes totais.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Analisando os resultados inseridos na Tabela 1, podemos evidenciar que 90,7% e 60% das amostras de leite cru apresentaram, respectivamente, contagens de microorganismos mesófilos e psicotróficos acima de 10⁷ UFC/ml, quantidade suficiente para provocar alterações nos alimentos (17). Deve-se ainda ressaltar que os microorganismos psicotróficos, principalmente as bactérias do gênero *Pseudomonas* spp., são capazes de produzir enzimas termorresistentes, como lipases e proteases, que além de degradarem os constituintes do leite, produzem uma variedade de «off flavours» (18).

TABELA 1

Distribuição percentual das 21 amostras de leite cru obtidas no tanque de estocagem da indústria, segundo a contagem de microorganismos mesófilos, psicotróficos e *Staphylococcus aureus* (UFC/ml)

Contagem de microorganismos UFC/ml	% das amostras		
	Mesófilos	Psicotróficos	S. aureus
10 ⁵ — 10 ⁶	0	5,0	66,7
10 ⁶ — 10 ⁷	9,3	35,0	33,3
10 ⁷ — 10 ⁸	86,0	45,0	0
10 ⁸ — 10 ⁹	4,7	15,0	0

Considerando ainda os dados da Tabela 1, constata-se que 33,3% das amostras de leite cru apresentaram contagens de *Staphylococcus aureus* acima de 10⁶ UFC/ml, quantidade que segundo Newsome (19) esta correlacionada á liberação de enterotoxina estafilocócica suficiente para causar intoxicação alimentar e mesmo que este produto venha a ser pasteurizado, a toxina pré-formada não será destruída, devido a sua característica termoestável (20). O leite cru também apresentou altos números de coliformes totais e fecais (Tabela 2), indicando a ocorrência de contaminação de origen fecal direta ou indireta, podendo estar associada com a presença de outros patógenos entéricos como *Salmonella*, *Shigella*, vírus entéricos e *Campylobacter* (21,22). Estes altos números de microorganismos presentes no leite cru (Tabelas 1 e 2) refletem as precárias condições higiênico-sanitárias durante a produção

e o processamento a nível de fazenda, associadas a inadequada refrigeração do produto. Os resultados da determinação da temperatura do leite cru nos tanques de estocagem da indústria demonstraram que 52% das amostras apresentaram temperatura acima de 5,5 °C. As amostras restantes (48%) apresentaram temperaturas entre 4,0 e 5,0 °C. Deve-se ressaltar, que temperaturas acima de 5,5 °C favorecem a multiplicação da maioria das bactérias patogênicas que podem estar presentes no leite (23).

TABELA 2

Distribuição percentual das 21 amostras de leite cru obtidas no tanque de estocagem da indústria, segundo o número mais provável de coliformes totais e fecais (NMP/ml)

NMP/ml	% das amostras	
	Coliformes totais	Coliformes fecais
10 ² — 10 ³	0	15,4
10 ³ — 10 ⁴	0	30,8
10 ⁴ — 10 ⁵	14,3	30,8
10 ⁵ — 10 ⁶	42,8	15,4
10 ⁶ — 10 ⁷	42,9	7,6

Analisando a Tabela 3, verifica-se que a pasteurização foi eficaz, pois reduziu a carga microbiana a níveis aceitáveis pelos padrões regulamentares brasileiros (24), de modo que na saída do pasteurizador nenhuma das 21 amostras de leite pasteurizado apresentaram contagens acima de 10⁴ UFC/ml. *Staphylococcus aureus* não foi isolado das amostras de leite pasteurizado, indicando que a pasteurização também foi suficiente para destruir estas bactérias.

TABELA 3

Distribuição percentual das 63 amostras de leite pasteurizado (21 em cada um dos 3 pontos do fluxograma de beneficiamento), segundo a contagem de microorganismos mesófilos e psicotróficos

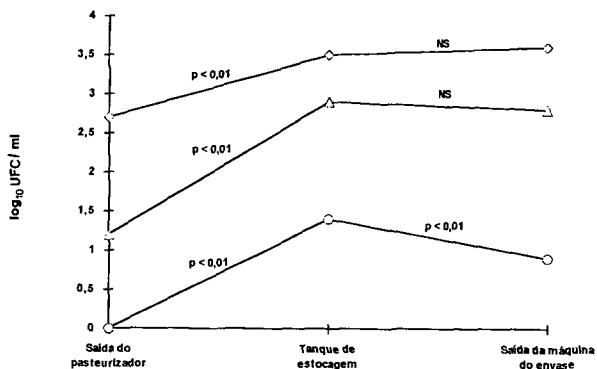
Contagem de microorganismos UFC/ml	% das amostras					
	Mesófilos			Psicotróficos		
	SP	TE	SE	SP	TE	SE
<1	0	0	0	71,4	23,8	52,4
10 ¹ — 10 ²	14,3	4,8	0	23,8	38,1	28,6
10 ² — 10 ³	76,2	57,1	38,1	4,8	23,8	9,5
10 ³ — 10 ⁴	9,5	28,6	52,4	0	14,3	4,8
10 ⁴ — 10 ⁵	0	9,5	9,5	0	0	4,7

SP - Saída do pasteurizador, TE - Tanque de estocagem do leite pasteurizado; SE - Saída da máquina do envase.

Entretanto, podemos observar que houve um aumento significativo ($p < 0,01$) dos microrganismos mesófilos, psicrotróficos e coliformes totais no tanque de estocagem do leite pasteurizado (Figura 1). Este achado revela a ocorrência de recontaminação do leite pasteurizado neste ponto do processo de beneficiamento, que pode ser atribuída às falhas na execução das medidas de higienização dos equipamentos, principalmente porque o resultado da análise microbiológica realizada na água, utilizada neste processo, demonstrou que 60% das 21 amostras apresentaram-se contaminadas por bactérias do grupo coliforme. Associada a esta falha está a inadequada temperatura de conservação do leite pasteurizado no tanque de estocagem, tendo em vista que 53% das amostras apresentaram temperaturas acima de 5,5 °C. Maharia & Gashe (25), estudando as fontes de contaminação do leite em uma planta de processamento, constataram que os números de microrganismos mesófilos aumentaram, de duas a quatro vezes, durante a permanência do leite no tanque de estocagem, sendo este ponto o que mais contribuiu para a recontaminação do produto pasteurizado. Considerando ainda os dados da Figura 1, verifica-se que entre o tanque de estocagem e a saída da máquina do envase, houve uma diminuição dos microrganismos psicrotróficos e coliformes totais, sendo que a redução do primeiro grupo não foi significativa. A redução destes microrganismos, talvez possa ser atribuída à ação antagonista por parte das bactérias lácticas presentes no leite. Uma revisão realizada por Jaspe et al (26), sobre as interações entre a flora láctica e psicrotrofica Gram-negativa do leite (incluindo algumas bactérias coliformes), destaca que as formas de ação recíproca entre ambas populações bacterianas são basicamente de antagonismo, por parte das bactérias lácticas (produção de ácidos orgânicos, água oxigenada e bacteriocinas) e de cooperação, por parte das bactérias psicrotroficas (Gram-negativas (aumento do nitrogênio não caseínico disponível e degradação da água oxigenada).

FIGURA 1

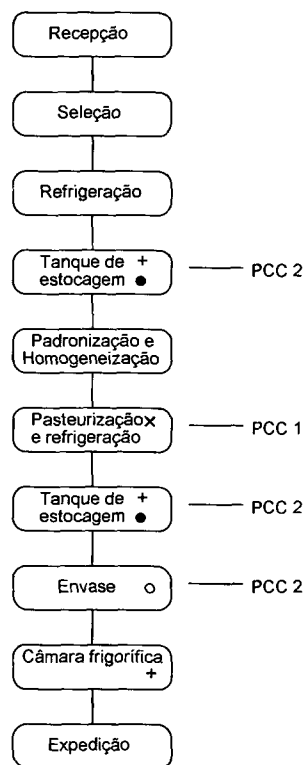
Médias aritméticas das contagens de microrganismos (\log_{10} UFC/ml) mesófilos (\diamond), psicrotróficos (Δ) e coliformes totais (O), nas 63 amostras de leite pasteurizado obtidas em três pontos do fluxograma de uma usina de beneficiamento. NS - Não significativo. $p < 0,01$ - Nível de significância no teste de Tukey



Diante dos resultados apresentados podemos comprovar que a conservação do leite cru e pasteurizado nos tanques de estocagem, a pasteurização e o processo de envase do leite pasteurizado são pontos críticos de controle (PCCs) (Figura 2), pois em cada uma destas etapas existe o perigo de ocorrer multiplicação, como foi constatado através das análises microbiológicas.

FIGURA 2

Fluxograma de beneficiamento do leite pasteurizado



CÓDIGO DE LETRAS E SÍMBOLOS:

- PCC 1 Ponto crítico de controle-Total
- PCC 2 Ponto crítico de controle-Parcial
- Ponto de contaminação importante
- Ponto de contaminação pouco importante
- + Possível multiplicação de microrganismos
- x Destruição térmica

No momento da chegada do leite cru à indústria é, imprescindível uma criteriosa seleção deste produto, devendo o mesmo ser conservado em tanque de estocagem a 5 °C ou menos. Como esta temperatura não é capaz de eliminar o perigo microbiológico, mas apenas reduzi-lo a níveis aceitáveis, evitando a multiplicação da maioria das bactérias patogênicas, a conservação do leite no tanque de estocagem é considerado um ponto crítico de controle parcialmente eficaz (PCC-2). O processo de pasteurização, por sua vez, é um ponto crítico de controle totalmente eficaz (PCC 1) (Figura 2), pois destrói as bactérias patogênicas, eliminando o perigo microbiológico. O conhecimento de que a pasteurização não é capaz de eliminar todas as toxinas, enzimas e esporos microbianos que podem estar presentes no leite cru (7) nos leva a propor outros PCCs

antes e após este tratamento térmico, devendo-se controlar principalmente a temperatura de refrigeração durante a estocagem do produto.

Torna-se evidente que para assegurar a qualidade microbiológica do leite pasteurizado, durante o processamento industrial, é necessário que sejam controlados os perigos microbiológicos em cada PCC através da monitoração da higienização dos equipamentos que entram em contato com o leite, do binômio tempo-temperatura de pasteurização e principalmente da temperatura de conservação nos tanques de um produto de boa qualidade e que não represente um risco para a saúde do consumidor.

REFERÊNCIAS

- Holmberg SD & Blake PA. The Staphylococcal food poisoning in the United States. *J Amer Med Assoc* 1984;251:487-489.
- Ryan CA, Mickels MK, Hargrett-bean NT et al. Massive outbreak of antimicrobial resistant salmonellosis traced to pasteurized milk. *J of Amer Med Assoc* 1987; 258: 3269-3274.
- Gilmour A & Harvey J. Staphylococci in milk and milk products. *J Appl Bacteriol (Symposium Supplement)* 1990; 69:147s-166s.
- Nader Filho A, Rossi Jr OD, Martucci R et al. Bacterial analysis of comercial pasteurized type C milk distributed in town of Jaboticabal - SP (Brazil). *Ars Veterinaria* 1986;2:262-268.
- Nader Filho A, Arnal LA, Rossi Jr OD et al. Características microbiológicas do leite pasteurizado dos tipos A, B e C, comercializados na Cidade de Ribeirão Preto, Estado de São Paulo. *Ars Veterinaria* 1990;6:166-172.
- Nascimento GGF. Condições microbiológicas do leite pasteurizado comercializado em Piracicaba - SP. *Boi Soc BBAS Ciênc Tecnol Alimentos* 1991;25:13-21.
- Busani SFB & Oliveira JS. Leite pasteurizado - Sua qualidade desde a fonte de produção. *Colet ITAL* 1989;19:101-112.
- Bauman HE. HACCP: Concept, development and application. *Food Technol* 1990;44:156-158.
- Munce BA. Hazard Analysis Critical Control Points and the food service industry. *Food Technol Australian* 1984;36:214-222.
- Smith JP, Toupin C, Gagnon B et al. A HACCP approach to ensure the microbiological safety of sous vide processed meat/pasta product. *Food Microbiol* 1990;7:177-198.
- Michanie S, Bryan FL, Alvarez P et al. Critical Control Points for foods prepared in households in which babies had salmonellosis. *Int J Food Microbiol* 1987;5:337-354.
- Bryan FL, Michanie S, Alvarez P. et al. Critical control points of street-vended foods in the Dominican Republic. *J Food Prot* 1988;51:373-383.
- Monge R, Arias ML, Utzinger D. et al. Calidad sanitaria de algunos alimentos distribuidos en servicios de alimentación hospitalarios de Costa Rica. *Arch Latinoamer Nutr* 1994; 44:164-167.
- International Commission on Microbiological Specifications for Food (ICMSF). Sistema de Análisis de Riesgos y Puntos Críticos: su aplicación a las industrias de alimentos. Zaragoza, Acribia, 1991;332p.
- Volonterio AG. Microbiological control of dairy products. *Latte* 1990;15:743-748.
- Food and Drug Administration (FDA). Bacteriological Analytical Manual. 7th ed. Washington. Published by Association of Official Agricultural Chemist (AOAC) International, 1992; 529p.
- International Commission on Microbiological Specifications for foods (ICMSF). Microorganisms in Foods: Their Significance and Methods of Enumeration. 2th ed. Canadá, University of Toronto Press, 1982;434p.
- Garg SK. Psychrotrophics in milk - A review. *Indian J Dairy Sci* 1990;43:433-440.
- Newsome RL. *Staphylococcus aureus*. *Food Technol* 1988; 42:194-195.
- Freitas MAQ & Magalhães H. Enterotoxigenicidade de *Staphylococcus aureus* isolados de vacas com mastite. *Rev Microbiol* 1990;21:315-319.
- Mossel DAA & García BM. Microbiología de los Alimentos. Zaragoza, Acribia, 1985;373p.
- Humphrey TT & Hart RJC. *Campylobacter* and *Salmonella* contamination of unpasteurized cow's milk on sale to the public. *J Appl Bacteriol* 1988;65:463-467.
- Ogihara H, Arai M, Maeda K et al. Effect of temperature on growth of inoculated food poisoning bacteria in low temperature long time pasteurization milk and milk quality. *Bulletin College Agric Vet Med Nihon University* 1992;49:151-156.
- Ministério de Agricultura. Brasil. Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA). p.81-94, Brasília, 1980.
- Mahari T & Gashe BA. A survey of the microflora of raw and pasteurized milk and the sources of contamination in a milk processing plant in Addis Abeba, Ethiopia. *J Dairy Res* 1990; 57:233-238.
- Jaspe A, Matias P, Fernández L et al. Revisión: interacciones entre la flora láctica y la flora psicrotrofa Gram-negativa de la leche. *Rev Esp Cienc Tecnol Alimentos* 1993;33:461-467.

Recibido: 11-09-1996

Aceptado: 27-08-1997

Vida de anaquel y evaluación sensorial en tortillas de maíz elaboradas con conservadores y mejoradores

José Juan Ordaz Ortiz¹ y María Gricelda Vázquez Carrillo²

Chapingo, México

RESUMEN. Con el propósito de elaborar tortillas empacadas, con una vida de anaquel prolongada y que a su vez tengan la calidad de un producto fresco, se planteó determinar el efecto de conservadores y mejoradores sobre las características reológicas, sensoriales y vida de anaquel en tortillas de harina de maíz nixtamalizado. Los conservadores evaluados fueron: sorbato de potasio (SK) y propionato de calcio (PCa). Como mejoradores de la textura se usaron: carboximetilcelulosa (CMC) y estearil-2 lactilato de sodio (SS2L). En las tortillas frescas se evaluó pH, rendimiento, textura, elasticidad y evaluación sensorial. Las tortillas empacadas en bolsas de polietileno se almacenaron a 4 °C. Las tortillas que tenían SK (0,1%), PCa (0,1%) y SS2L (0,25%), fueron las más ácidas (pH=5,12), las de mayor vida de anaquel (53 días sin desarrollo de microorganismos), y la menor cuenta total de mesófilos aerobios (23 unidades formadoras de colonias). Los mayores rendimientos correspondieron a los tratamientos con 0,5% de CMC, siendo las tortillas más elásticas, pero con menor vida de anaquel (18 y 24 días). Diez días después de empacar las tortillas, fueron recalentadas y evaluadas sensorialmente por 5 panelistas entrenados, quienes juzgaron que el mejor tratamiento fue el que contenía SK (0,1%), PCa (0,1%) y CMC (0,5%), por ser las tortillas más suaves y elásticas; en el resto de los atributos las mejores tortillas fueron las hechas con el método tradicional (frescas). En la prueba de nivel de agrado, los consumidores señalaron que la tortilla de mejor sabor era la tradicional. No obstante, los tratamientos con mezcla de conservadores (SK y PCa) y mejoradores, obtuvieron calificaciones semejantes a las obtenidas por dos marcas comerciales de tortillas empacadas. Palabras clave: Tortillas, vida de anaquel, maíz, características, reológicas.

INTRODUCCION

En México la producción de tortillas puede realizarse a partir de masa de maíz nixtamalizado o bien a partir de harina de maíz nixtamalizado. En ambos casos los consumidores prefieren las tortillas de masa fresca y recién hechas. No obstante, en los últimos años han aparecido en el mercado

SUMMARY. Shelf-life and sensory evaluation of corn tortillas, made with preservatives and texture conditioners. With the objective of producing packaged tortillas with a longer shelf-life which, at the same time, have the qualities of fresh tortillas, the effects of preservatives and texture conditioners on rheologic and sensory characteristics and shelf-life of tortillas made with nixtamalized corn flour were studied. The preservatives evaluated were potassium sorbate (SK) and calcium propionate (PCa). The texture conditioners used were carboxymethylcellulose (CMC) and sodium stearyl-2 lactilate (SS2L). Fresh tortillas were evaluated for pH, yield, texture, elasticity, and sensory quality. The packaged tortillas were packed in polyethylene bags and stored at 4 °C. The tortillas with 0,1% SK, 0,1% PCa, and 0,25% SS2L were the most acid (pH=5,12), had the longest shelf-life (53 days with no microorganism growth), and the lowest total count of aerobic mesophylls (23 colony forming units). The highest yields resulted from the treatment with 0,5% CMC, producing the most elastic tortillas but those with the shortest shelf-life (18 and 24 days). The sensory evaluation, done ten days after packing by five trained panel members, judged that best treatment was that which contained 0,1% SK, 0,1% PCa, and 0,5% CMC. These tortillas were judged to be the softest and most elastic. For the remaining attributes, the best tortillas were those processed by the traditional method (fresh). In the pleasure test, the opinion of the consumers was that the tortilla with the best flavor was the traditionally prepared tortilla. Nevertheless, the treatments with mixtures of preservatives and texture conditioners were graded with scores similar to those obtained by two commercial packaged tortillas. Key words: Tortillas, shelf-life, corn, rheological, characteristics.

varias marcas de tortillas envasadas, cuyas características sensoriales distan mucho de las de este producto fresco. El uso de harina nixtamalizada para la producción de tortillas es cada día mayor, debido a las ventajas económicas, ambientales, y de manejo que su uso representa, entre las que se puede mencionar la relativa facilidad para adicionar otros componentes, tal es el caso de los conservadores y mejoradores que se emplean en la elaboración de tortillas empaquetadas de larga vida de anaquel.

La tortilla es un producto alcalino (pH entre 7,0 y 7,5), con una humedad promedio de entre 38-55% (1), fuente de calcio, cuyas características palatables están relacionadas con el hidróxido de calcio (cal) que se emplea en el cocimiento del

1. Ingeniero Agroindustrial. Universidad Autónoma Chapingo.
2. Investigador del Inst. Nac. de Investigaciones Forestales y Agropecuarias (INIFAP). Chapingo, México.

maíz (nixtamalización). Cuando el maíz es nixtamalizado con porcentajes de cal mayores de 1,5% las tortillas tienen un sabor a cal que es indeseable para el consumidor y cuando la cal se añade en pequeñas proporciones las tortillas son quebradizas. Por otra parte la cal también se usa para evitar que las masas se acidifiquen. Así, en proporciones adecuadas la cal mejora las características palatables de la tortilla, es una fuente de calcio y un conservador de masas y tortillas.

Para lograr un eficiente control de hongos y bacterias en las tortillas se emplean combinaciones de ácidos y sales (conservadores). La reducción del pH de las harinas, por medio de ácidos (cítrico, fumárico o sórbico) aumenta la eficiencia de los conservadores, pero modifican las características organolépticas del producto (1,2). Las sales comúnmente empleadas para prolongar la vida de anaquel de tortillas son: el sorbato de potasio (SK) y el propionato de calcio (PCa), que son solubles en agua y más activos a pH bajos (3,5 - 6,6). Al disociarse en agua desprenden un olor ácido característico. El SK inhibe diversas enzimas presentes en la célula del microorganismo, ataca principalmente mohos y levaduras. El PCa se acumula en la célula del microorganismo interfiriendo el metabolismo por bloqueo enzimático o bien inhibiendo el crecimiento por competencia de sustratos. Tiene un amplio espectro de acción (3).

Investigaciones sobre estos conservadores señalan que tortillas elaboradas con PCa (0,0; 0,05; 0,1; 0,2 y 0,4 g), empacadas en bolsas de polietileno y almacenadas a temperatura ambiente, permanecen libres de hongos de 2 a 5 días, mientras que con dimetil fumarato (no aprobado por la FDA) la vida de anaquel fue de 2-11 días (4). En otra investigación (5) se redujo la humedad de las tortillas (THI), se adicionó glicerol como humectante y sorbato de potasio como agente micostático; señalando que las propiedades organolépticas de estas tortillas son diferentes a las obtenidas con el método tradicional, sin embargo los jueces calificaron a la THI como aceptable. La evaluación de tortillas comerciales de maíz empacadas en bolsas de polietileno y almacenadas a -10°C y 5°C ; ha mostrado que estos productos se mantienen sin cambios en su textura, calidad sanitaria y evaluación sensorial, durante 11 días (6).

Los hidrocoloides mejoran la textura de las tortillas pues conservan la humedad e imparten cohesividad a la estructura que se forma por efecto de la gelatinización de almidón y desnaturalización de proteínas. Entre los mejoradores más usados está la carboximetilcelulosa (1).

Con el propósito de elaborar una tortilla empacada con una vida de anaquel prolongada y que a la vez brinde la calidad de un producto fresco, se planteó determinar el efecto de la adición de conservadores y mejoradores de la textura sobre las características reológicas, sensoriales y microbiológicas de tortillas elaboradas a partir de harina nixtamalizada, empacadas en bolsas de polietileno y almacenadas a 4°C .

MATERIALES Y METODOS

Se investigaron ocho tratamientos y un testigo con harina comercial de maíz nixtamalizado. Los aditivos usados fueron: ácido fumárico como acidulante, se adicionó en 0,3%; sorbato de potasio (SK) y propionato de calcio (PCa), ambos se adicionaron en una proporción de 0,1%; carboximetilcelulosa 7HXS (CMC) y estearil-2-lactilato de sodio (SS2L) se estudiaron mezclados en proporciones de 0,25 y 0,5%; todos bajo la especificación grado alimenticio. Todas las concentraciones fueron en base al peso de la harina. La masa se elaboró mezclando 100 g de harina con 125 ml de agua destilada pH de 6,6, los hidrocoloides se mezclaron en seco con la harina, los conservadores y el ácido fumárico se disolvieron previamente en el agua con que se hidrató la harina. La mezcla se amasó hasta no observar presencia de grumos en la masa, se elaboraron las tortillas (20 g de masa c/u) con una prensa manual cuidando que todas llegaran a un diámetro de $15 \pm 0,2$ cm, con el propósito de que todas tuvieran el mismo espesor (aproximadamente 3 mm). Se cocieron en un comal metálico a una temperatura de $160 \pm 5^{\circ}\text{C}$; cada tortilla se coció: 45 s por un lado, 35 s del otro y finalmente 25 s. Cuatro horas después de elaboradas las tortillas ya frías se dividieron; una porción para las evaluaciones en fresco y el resto se empacó en bolsas de polietileno, que fueron selladas y almacenadas a 4°C para la evaluación microbiológica (a las 24 h) y sensorial 10 días después de empacadas. Las determinaciones realizadas en las tortillas fueron: peso (g), pH [método 14.002, (7)], humedad [método N° 14.004, (7)]. Para textura y elasticidad de tortilla se usó el Texturómetro Universal (Instron, modelo 1120) con el punzón punta de estrella, y una celda de compresión de 1 Kg; la velocidad de la celda y el graficador fueron de 10 y 20 cm/seg respectivamente (8). La medición se realizó recalentando las tortillas en un horno de microondas, durante 90 s con un nivel de calentamiento 7. La textura o dureza (g-fuerza) quedó representada por el pico más alto de la gráfica. La elasticidad fue determinada por la distancia (mm), desde el inicio de la gráfica hasta la pendiente que cae del pico más alto. La vida de anaquel se obtuvo contando los días en que aparecían colonias de microorganismos visibles en las tortillas. La cuenta total de mesófilos aerobios (bacterias), hongos y levaduras se realizó a las 24 horas de empacadas (7).

Evaluación sensorial, se realizó con dos pruebas: a) Análisis Descriptivo Cuantitativo (ADC) (9); la metodología se generó con cinco panelistas entrenados, quienes evaluaron las tortillas recién hechas y las recalentadas después de 10 días de empacadas y almacenadas a 4°C . Los jueces definieron la(s) referencia(s) a usar para cada atributo en una escala de 15 cm. Los atributos fueron: facilidad al enrollamiento, aroma a harina nixtamalizada, aroma a pinole (maíz tostado y molido), aroma a ácido acético, humedad, dureza, sabor a cal, sabor dulce, sabor a ácido, elasticidad, y adhesividad en el paladar. b) Prueba de Nivel de Agrado (9), 54 jueces-consumidores calificaron atributos de color, apariencia, facilidad al enrolla-

do y sabor en los dos mejores tratamientos del ADC (seis y nueve), tortillas frescas (recién hechas) y dos marcas comerciales de tortillas empacadas, usando una escala hedónica de nueve puntos (desde gusta muchísimo hasta disgusta muchísimo). En ambos casos los datos se analizaron con análisis de varianza y pruebas de comparación múltiple.

RESULTADOS Y DISCUSION

Las tortillas que contenían ácido fumárico (0,3%) fueron significativamente más ácidas que el testigo, observándose además diferencias entre tratamientos, lo que pudiera deberse al efecto de las sales y los hidrocoloides investigados. Las

tortillas más ácidas fueron las de mayor vida de anaquel (Tabla 1). En el rendimiento (peso) se encontraron diferencias estadísticas ($\alpha=0,05$) entre tratamientos, se observa que las tortillas con carboximetilcelulosa (CMC) son las de mayor rendimiento (debido posiblemente a una mayor retención de agua), no obstante, en el contenido de humedad de las tortillas no se encontraron diferencias significativas. Las tortillas con mejor textura pudieran ser las del tratamiento cinco (pues requieren de menos fuerza para romperse), sin embargo, estadísticamente todos los tratamientos son iguales. Por su elasticidad sobresalen las tortillas con 0,5% de CMC, que son estadísticamente diferentes al resto de los tratamientos (Tabla 1), coincidiendo con lo señalado por otros autores (1,11,12).

TABLA 1
Características de tortillas de maíz recién hechas y empacadas en bolsas de polietileno almacenadas a 4 °C¹

Tratamiento	Descripción	Recién hechas			Empacadas			
		pH	Humedad (%)	Peso (g)	Textura (g-f)	Elasticidad d(mm)	Vida de Anaquel (días)	CTMA (U.F.C/g)
1	Testigo	6,7 a&	46,8 a	14,9 ab	236,3 a	4,63 ab	10,3 c	33,7 a
2	0,1%SK, 0,5%CMC	5,7 b	45,4 a	15,5 a	257,3 a	5,26 a	18,3 cb	24,3 a
3	0,1%SK, 0,25%CMC	5,7 b	44,3 a	14,9 ab	190,7 a	4,63 ab	22,0 cb	52,0 a
4	0,1%SK, 0,5% SS2L	5,6 bc	46,1 a	14,7 ab	180,3 a	4,23 b	21,0 cb	65,7 a
5	0,1%SK, 0,25% SS2L	5,6 bc	41,3 a	15,0 ab	174,7 a	4,27 b	25,6 cb	26,7 a
6	0,1%SK, 0,1%PCa, 0,5%CMC	5,6 bc	46,2 a	15,9 a	233,0 a	5,43 a	24,0 cb	25,0 a
7	0,1%SK, 0,1%PCa, 0,25%CMC	5,5 bc	41,3 a	15,2 a	216,7 a	4,80 ab	33,6 ab	40,7 a
8	0,1%SK, 0,1%PCa, 0,5%SS2L	5,6 bc	38,1 a	13,9 b	258,0 a	4,17 b	21,0 cb	58,0 a
9	0,1%SK, 0,1%PCa, 0,25% SS2L	5,1 c	38,8 a	15,1 ab	243,0 a	4,47 ab	52,6 a	23,3 a
	Diferencia Mínima Significativa	0,51	1,4	1,3	80,8	0,98	22,32	4,81

1 Promedio de tres repeticiones.

2 Tortillas de 20 g de masa.

SK Sorbato de potasio, PCa propionato de calcio, CMC Carboximetilcelulosa, SS2L Estearil-2-lactilato de sodio.

CTMA Cuenta Total de Mesófilos Aerobios, U.F.C. Unidades Formadoras de Colonias.

& Letras iguales no hay diferencia estadística ($\alpha=0,05$).

Con excepción del tratamiento nueve que tuvo la mayor vida de anaquel, el resto de los tratamientos mostraron deterioro por microorganismos en tiempo semejante ($x=21$ días) y diferentes al testigo. Las tortillas con 0,1% SK, 0,1% PCa y 0,25% de SS2L fueron las de mayor vida de anaquel debido posiblemente a su reducida humedad y bajo pH. No obstante, que a todos los tratamientos se les adicionó la misma cantidad de agua (Tabla 1).

El almacenamiento a 4 °C de las tortillas empacas, se suspendió al percibirse el desarrollo de microorganismos. En el testigo a los 10 días se identificaron colonias de *Penicillium sp.*, *Aspergillus niger*, *Mucor rouxii*, *Cladosporium sp.* En el mismo tiempo en los tratamientos, únicamente se desarrollaron colonias de *Penicillium sp.* (Tabla 1), lo cual muestra la

eficiencia de las sales adicionadas (solas o combinadas) para inhibir la acción de especies de hongos menos agresivos que *Penicillium sp.*

El Análisis Descriptivo Cuantitativo (ADC) mostró que las tortillas del tratamiento seis son mejores que el testigo en los atributos de dureza y elasticidad, coincidiendo con la evaluación instrumental realizada y estando de acuerdo con lo informado en productos alimenticios que contienen CMC (1,11,12). En esta evaluación también destacó el tratamiento nueve, que fue estadísticamente igual al testigo en el atributo de dureza (Tabla 2). Al comparar los ocho tratamientos con dos marcas de tortillas comerciales empacadas (A y B), se encontró que los tratamientos 6 y 9 fueron mejores en el atributo de aroma a ácido acético. El tratamiento seis superó

TABLA 2
Análisis descriptivo cualitativo de tortillas de maíz¹

Tratamiento	E*	D*	AP*	AAA*	SC*	SD*	SA*	EL*
Tort. tradicionales ²	12,00 a&	3,4 b	5,1 a	1,5 c	0,82 b	3,8 b	0,5 b	6,7 d
SK, PCa, CMC (6)	11,7 b	4,0 a	3,1 b	3,1 c	1,0 ab	3,4 c	0,5 b	8,1 a
SK, PCa, SS2L (9)	9,2 d	3,3 b	1,0 d	3,0 d	1,0 ab	2,5 d	0,4 c	6,2 e
Comercial A	11,3 c	4,1 a	1,1 c	5,1 a	1,2 a	2,2 e	0,7 a	7,3 b
Comercial B	11,1 c	4,3 a	1,0 d	3,9 b	1,0 ab	4,9 a	0,5 b	7,1 c
D,M,S,	0,31	0,40	0,13	0,08	0,25	0,11	0,05	0,13

1 Promedio de tres repeticiones. Los tratamientos 6 y 9 son tortillas almacenadas durante 10 días a 4 °C.

2 Recién hechas.

* Atributos: Enrollamiento, Dureza, Aroma a pinole (maíz tostado y molido), Aroma a Acido Acético, Sabor

a Cal, Sabor Dulce, Sabor Acido, Elasticidad

DMD. Diferencia Mínima Significativa

& Letras iguales no hay diferencia estadística ($\alpha=0,05$)

a las marcas comerciales en el enrollado y la elasticidad (Tabla 2). Estos resultados muestran la preferencia de los conocedores por las tortillas frescas y recién hechas, no obstante, que también aceptan con agrado las tortillas con apropiadas proporciones de ácido, conservadores y mejoradores.

En la prueba de nivel de agrado los jueces-consumidores, señalaron que la tortilla de mejor sabor era la tradicional, seguida por la marca comercial A que fue estadísticamente igual a los tratamientos 6 y 9. En color, apariencia y facilidad al enrollado la tortilla comercial B y el tratamiento 6 fueron estadísticamente iguales. Es posible que los consumidores hayan preferido el tratamiento con CMC, debido a su mayor elasticidad. En la calificación global del nivel de agrado, aparece en primer lugar la tortilla tradicional, seguida por la comercial B, después el tratamiento 6, seguido por la tortilla comercial A, el tratamiento 9 y al final el testigo a base de harina nixtamalizada. De lo anterior se concluye que los consumidores de tortillas, continúan prefiriendo la tortilla tradicional recién hecha, sin embargo, aceptan con agrado las tortillas con conservadores y mejoradores, ya que se mejora la apariencia y la facilidad al enrollado.

CONCLUSIONES

La vida de anaquel de las tortillas de maíz elaboradas con conservadores y mejoradores almacenadas a 4 °C, se incrementó de 10 días (testigo) a un promedio de 21 días, en siete de los tratamientos investigados. Por su rendimiento tortillero, elasticidad (medida instrumental y sensorialmente), vida de anaquel y evaluación sensorial, la mejor tortilla fue la elaborada con sorbato de potasio (0,1%), propionato de calcio (0,1%) y carboximetilcelulosa (0,5%). La evaluación sensorial (ADC y Prueba de Nivel de Agrado) mostraron que los consumidores prefieren las tortillas hechas con el método

tradicional y recién hechas. No obstante, aceptan con agrado las tortillas que contienen conservadores y mejoradores de la textura, ya que se mejora la apariencia y la facilidad al enrollado.

AGRADECIMIENTOS

Al Químico Jorge Castillo Merino por sus atinadas sugerencias en el análisis instrumental, al QBP. Salvador Martínez Romero por su asesoramiento en el análisis microbiológico, al Dr. Arturo Hernández Montes gracias por su colaboración en la evaluación sensorial parte fundamental del trabajo, y de manera muy especial a los miembros del panel de Evaluación Sensorial de Alimentos del Departamento de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Autónoma Chapingo y del Laboratorio de Tecnología de Alimentos (INIFAP).

REFERENCIAS

1. Almeida HD y Rooney LW. Avances en la manufactura y calidad de productos de maíz nixtamalizado. Rev Industria Alimentaria. Diciembre, 1996; p.4-13.
2. Tellez-Girón A, Acuff GR, Vanderzant C, Rooney LW & Waniska RD. Microbiological characteristics and shelf life of corn tortillas with and without antimicrobial agents. J Food Protections 1988; 51(12): 945-948.
3. Lueck E. Antimicrobial food additives. Springer-Verlag, Berlín Heidelberg, NY, 1977.
4. Islam MN, Lirio ME & Delvalle RR. Mold inhibition in tortilla by dimethyl fumarate. J Food Process Preserv 1984; 8:41-45.
5. Pelaez J & Karel M. Development and stability of intermediate moisture tortilla. J Food Process Preserv 1979; 4:41-65.
6. Nieblas JM., Sánchez A, Cumplido LG y Higuera-Ciapara I. Efectos del material de empaque y temperatura de almacenamiento en la calidad de tortilla de maíz. Arch Latinoam Nutr 1991; 41(4): 584-594.

7. Association of Official Analytical Chemists (AOAC). Official Methods of Analysis, 14a ed. USA, 1984.
8. Vásquez AR. Correlación de medidas sensoriales e instrumentales para optimizar una metodología para medir textura en tortillas. Tesis Profesional, Departamento de Ingeniería Agroindustrial, Universidad Autónoma Chapingo, México, 1990.
9. Stone H & Sidel JL. Sensory evaluation practices. Second edition, Academic Press, Inc. California, USA 1993.
10. Pedrero FDL y Pangborn RM. Evaluación sensorial de alimentos, métodos analíticos. Edif. Alhambra Mexicana, México D.F. 1989; 251pp.
11. Feddersen RL & Stephen NT. Sodium carboxymethylcellulose, in: «Industrial Gums, polysaccharides and their derivatives», Whistler R.L., BeMiller J.N. Academic Press Inc, California, USA, 1993.
12. Glicksman M. Food applications of gums in: «Food Carbohydrates», Lineback D.R., AVI Publi, Inc. USA, 1982.

Recibido: 12-02-1996

Aceptado: 04-07-1997

Evaluación de la calidad nixtamalera-tortillera de mezclas maíz-frijol endurecido (*Zea mays-Phaseolus vulgaris*)¹

C. García-Osorio¹, y M.G. Vázquez Carrillo²

Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias (INIFAP), Chapingo, México

RESUMEN. En México, algunas variedades de frijol se endurecen durante el almacenamiento requiriendo mucho tiempo para su cocción, frijoles que necesitan más de 4 horas para su cocimiento son declarados por la agencia de Gobierno CONASUPO, inadecuados para el consumo humano. Sin embargo, su valor nutritivo permanece inalterado. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la calidad nixtamalera-tortillera de mezclas maíz-frijol endurecido, proteína, evaluación sensorial y vida de anaquel de las tortillas. Estas fueron hechas con 5 y 10% de frijol endurecido sin testa y comparadas con un testigo 100% maíz. Las mezclas y el testigo se nixtamalizaron durante 20, 30 y 40 minutos y 1% de óxido de calcio (CaO). La viscosidad máxima de las masas fue estadísticamente igual al del testigo. La mezcla con 10% frijol, 90% maíz y 30 min de nixtamalización proporcionó tortillas con 26.3% más de proteína que el testigo. La textura evaluada en el Instron mostró que las tortillas con 10% de frijol son más duras que el testigo, sin embargo, en la evaluación sensorial, los jueces calificaron a las tortillas con 30 min de nixtamalización y recién hechas como las mejores, sin encontrar diferencias significativas entre el testigo y las mezclas con frijol endurecido. El análisis de hongos, levaduras y bacterias a temperatura ambiente y refrigeración (4 °C), mostró que el crecimiento de microorganismos fue directamente proporcional al porcentaje de frijol adicionado y al tiempo de almacenamiento. El mayor número de microorganismos se encontró a temperatura ambiente con 48 h de almacenamiento.

Palabras clave: Tortillas, maíz-frijol, nixtamalización.

SUMMARY. Evaluation of the nixtamal-tortilla-making quality of mixtures of maize (*Zea mays*) and hard beans (*Phaseolus vulgaris*). In Mexico, some varieties of beans become hard during storage, and require a longer time for cooking. Beans which need more than four hours to cook are deemed unsuitable for human consumption by the government agency CONASUPO even though their nutritional value is unaltered. The objective of this study was to evaluate the nixtamal-tortilla-making quality of mixtures of maize and hard beans, protein, sensory evaluation, and shelf life of the tortillas. The tortillas were made from mixtures of maize with 5% and 10% hard beans without the seed coat and compared with tortillas made with 100% maize. The mixtures and the control were nixtamalized for 20, 30 and 40 minutes with 1% lime (CaO). The maximum viscosity of the masas were statistically equal to that of the control. The mixture with 10% beans, 90% maize, and 30 min of nixtamalization produced tortillas with 26.3% more protein than the control. The texture evaluated in the Instron showed that the tortillas with 10% beans were harder than the control; however, in the sensory evaluation, the recently-made tortillas with 30 min nixtamalization were judged the best, with no significant differences between the control and the mixtures of maize with hard beans. The analysis of fungi, yeasts, and bacteria at room temperature and with refrigeration (4 °C), showed that the growth of microorganisms was directly proportional to the percentage of beans added and the duration of storage. The largest number of microorganisms was found at room temperature after 48 h of storage.

Key words: Tortillas, corn-beans, nixtamalization.

INTRODUCCION

En México el maíz y el frijol constituyen la base de la alimentación de la mayoría de los mexicanos. El 67% del consumo total de maíz se destina a la fabricación de tortillas, alimento que se consume en forma masiva por los sectores más desprotegidos.

En frijol (*Phaseolus vulgaris* L.), que es la principal fuente proteínica de los sectores consumidores de tortillas, se ha informado que el 10% de la producción almacenada, se pierde por endurecimiento (1); fenómeno que provoca tiempos prolongados de cocción y sabores indeseables, esto limita su comercialización y lo ubica como «fuera de norma» con lo que se reduce su precio hasta en un 80% de su valor original. Existen dos vías que dan origen al endurecimiento, la primera se refiere a la semilla (partes anatómicas y origen genético) y la segunda se refiere a las condiciones de almacenamiento, que inducen cambios físicos en la microestructura de la semilla (2).

El efecto de cualquiera de las dos vías es el de resistir la

1. Resumen de la tesis profesional para obtener el título de Ingeniero Agroindustrial, D.I.A., UACH.
2. Ingeniero Agroindustrial, UACH.
3. Investigador Titular del Laboratorio de Tecnología de Alimentos, INIFAP, Chapingo, México.

absorción de agua. También se ha señalado que la humedad del grano, temperatura, humedad relativa del ambiente y el tiempo de almacenamiento son los factores que más influyen en el endurecimiento del frijol (1,2).

Con respecto al proceso de nixtamalización, no se sabe con certeza cuando fue que los antiguos mexicanos comenzaron a dar al maíz el tratamiento alcalino; sin embargo, la importancia de éste ha sido ponderado en múltiples estudios; se sabe que la hidratación, suavización del endospermo y germen, así como la gelatinización parcial del almidón y la desintegración del pericarpio son los mayores cambios ocurridos durante la nixtamalización (3). Por otra parte, a pesar de las pérdidas de nutrimentos en la etapa de nixtamalización se mejora la calidad nutricional de las tortillas, pues se aumenta el valor biológico del grano original (4,5).

Los beneficios de la ingesta de calcio vía tortillas han sido ampliamente demostrados (6). Se sabe que el valor nutricional del frijol endurecido es bueno (7), por lo que se busca que éste se aproveche en la alimentación humana, vía nixtamalización junto con el maíz, para elaborar tortillas cuya calidad comercial y nutricional sean de preferencia superiores al de las tortillas que actualmente se consumen. El objetivo fue, evaluar la calidad nixtamalera-tortillera de la mezcla maíz-frijol endurecido, proteína, evaluación sensorial (aceptación) y vida de anaquel de las tortillas.

MATERIALES Y METODOS

El frijol utilizado fue de tipo azufrado (café claro). Previo a la nixtamalización se le eliminó la testa siguiendo la metodología descrita por Mendoza (8) El maíz empleado fue del tipo Tuxpeño, de la cosecha 1989. Los tratamientos estudiados fueron: el testigo 100% maíz; la mezcla 95% maíz y 5% frijol y 90% maíz con 10% frijol. Cada uno de estos tratamientos se evaluaron con 20, 30 y 40 min de cocción (nixtamalización), esta última consistió en colocar sobre las parrillas del equipo para extracción de fibra, vasos de precipitados de 600 ml con 200 ml de agua más 100 g de la mezcla de maíz-frijol, con el 1% de óxido de calcio (CaO). Las semillas cocidas «nixtamal» se dejaron reposar durante 17 h, separándose después el agua de cocimiento («nejayote»), el nixtamal se lavó con 200 ml de agua para eliminar el exceso de cal y el pericarpio desprendido. En el nejayote y en el agua de lavado se evaporó el líquido, para evaluar los sólidos desprendidos. El nixtamal se molió en un molino de piedras, a la masa obtenida se le adicionó agua y amasó manualmente hasta obtener una humedad de entre 55 y 58%, posteriormente se elaboraron las tortillas en una tortilladora manual, de manera paralela se evaluó viscosidad en el viscoamilógrafo Brabender (9). El cocimiento de las tortillas se hizo en una plancha metálica (comal) a 180 °C, cociéndose primeramente por un lado (14 seg), después por el otro lado 30 seg y por último voltearla y dejarla por 15 seg más. Una vez cocidas y frías se empacaron en bolsas de polietileno, almacenándose a temperatura am-

biente (aproximadamente 23 °C) y a 4 °C. En tortillas se determinó: peso de tortillas frías, color evaluado en equipo Hunter-Lab, humedad, proteína, cenizas, fibra cruda y extracto etéreo con métodos oficiales de la AOAC (9), así como textura, evaluada en el equipo Instron Universal (8), empleando una celda de compresión de 1 kg y el aditamento punta de estrella, la velocidad de la celda fue de 20 cm/min. Los resultados se analizaron como un Diseño Completamente al Azar, con tres repeticiones. El análisis sensorial de tortillas (los nueve tratamientos más una tortilla comercial) fue evaluado por un panel de 16 jueces semientrenados, calificándose los parámetros de sabor, textura, color, olor, facilidad al enrollado y masosidad, con una escala del 1 a 7, a las 24, 48 y 72 h de almacenamiento, éste último sólo se evaluó en las tortillas almacenadas a 4 °C, los resultados se analizaron por medio de la prueba de Quade (10). De manera paralela se realizó el análisis microbiológico, evaluándose como cuenta total en placa de bacterias, hongos y levaduras por siembra en difusión (9).

RESULTADOS Y DISCUSION

En la Tabla 1 se observa que el frijol investigado se encuentra dentro de la clasificación de endurecido, por el largo tiempo que requiere para su cocimiento, además de presentar características físicas y de cocción superiores a las especificadas para un frijol fresco. El frijol estudiado es de semilla grande, con alta proporción de testa, cuyo espesor es de 0,134 mm que supera en un 15% a las variedades, Bayomex y Negro Puebla (12) que son frijoles de amplio consumo en México.

TABLA 1
Comparación de características físicas y de cocción de semillas de frijol endurecido y fresco

Concepto	Resultados (frijol endurecido)	Valor de referencia* (frijol fresco)
Peso del grano	0.35 g	>0.247 g frijol grande
Cáscara	10.5%	> 10.0% alto contenido
Absorción de agua	86.7%	>81.0% cáscara suave
Grosor de testa	0.134 mm	
Tiempo de cocción	540.0 min+	> 150.0 min frijoles duros
Espesor del caldo	1.3%	<9.0% caldo ralo

* (11)

(+) previo remojo de 18 h

Por su elevado tiempo de cocción (2.5 veces más que un frijol fresco), CONASUPO, dependencia Gubernamental, responsable del abasto de productos básicos en México, la clasifica como un producto fuera de norma. En la Figura 1, se observa que con el 1.5% de CaO, el tiempo de cocción del frijol entero (con testa) se reduce en un 59%. Lo anterior pudiera explicarse, como un fenómeno similar a lo ocurrido con el maíz, donde el CaO, rompe las estructuras de celulosa y

hemicelulosa que conforman el pericarpio del grano, permitiendo una rápida penetración del agua al endospermo del maíz.

En la nixtamalización se encontraron diferencias estadísticas en el volumen de nejayote, siendo inferior en las mezclas que tienen frijol, lo cual se confirma por la mayor humedad en el nixtamal y masa (Tabla 2). En los sólidos de las aguas de cocción las mezclas perdieron más sólidos que el testigo, lo cual pudiera deberse a que los cotiledones se nixtamalizaron sin testa. No obstante, los rendimientos fueron estadísticamente iguales, debido principalmente a que las tortillas con frijol son más húmedas. Las tortillas con 10% de frijol, presentan colores más oscuros, que los testigos de 100% maíz (Tabla 2). En la evaluación de textura con el equipo Instron, se encontraron diferencias significativas ($\alpha = 0.05$) entre los tratamientos. Las tortillas obtenidas con 30 min de cocción y 10% de frijol endurecido fueron las más duras (Tabla 2).

FIGURA 1
Efecto de concentración de CaO en el tiempo de cocción de frijol endurecido

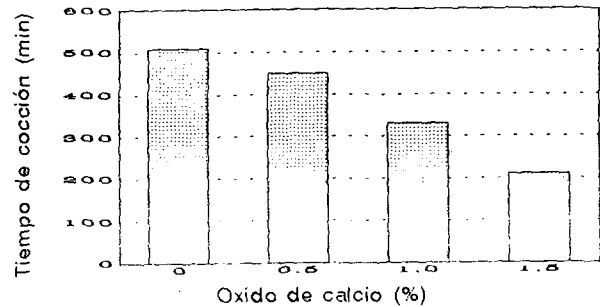


TABLA 2
Evaluación de nixtamal y tortillas hechas con mezclas maíz-frijol endurecido con 30 min de cocción

Mezcla	Nejay* (ml)	HNixt* (%)	HMa& (%)	Solid\$ (%)	Color γ (E)	Hum β (%)	Rend Λ	Text χ g-f	Prot δ (%)	Ceniza (%)	Fibra (%)
100 Maíz	112a+	44.6c	55.9bc	3.2bc	64.4a	43.0c	1.4a	230c	8.7c	1.5b	1.8a
5% Frijol	98b	46.4b	56.2ab	3.5ab	62.4b	62.4a	1.5a	302b	10.0b	1.5b	1.9a
10% Frijol	94c	54.4a	57.3a	3.8a	59.5c	59.5ab	1.5a	410a	11.8a	1.7a	1.9a

*= Volumen de nejayote

•= Humedad del nixtamal

χ = Textura de tortillas

γ = Color de las tortillas, $E = (L^2 + b^2 + c^2)^{1/2}$, donde el estándar blanco=97.3

Λ = Rendimiento = Peso total de tortillas (de 100 g de maíz) entre 100.

δ = Proteína (N x 6.25)

Proteína, ceniza y fibra= informados en base seca

+ = Letras iguales no hay diferencia estadística

$\alpha = 0.05$

\$= Sólidos totales

&= Humedad de la masa

β = Humedad en tortillas

TABLA 3

Efecto del tiempo de cocción y frijol endurecido en la viscosidad de masas nixtamalizadas

Tratamiento	Tiempo cocción (min)	Temperatura inicial de gela- tinización (°C)	Viscosidad Máxima (UB)	Viscosidad final (UB)
100% Maíz	20	73.0 b&	302.5 a	490.0 a
5% Frijol	20	121.0 a	275.0 a	420.0 a
10% Frijol	20	118.0 a	265.0 a	441.0 a
100% Maíz	30	71.5 b	225.0 a	392.5 a
5% Frijol	30	120.0 a	215.0 a	387.5 a
10% Frijol	30	121.0 a	272.0 a	430.0 a
100% Maíz	40	72.0 b	200.0 a	384.5 a
5% Frijol	40	128.0 a	227.5 a	387.5 a
10% Frijol	40	124.0 a	195.0 a	335.0 a

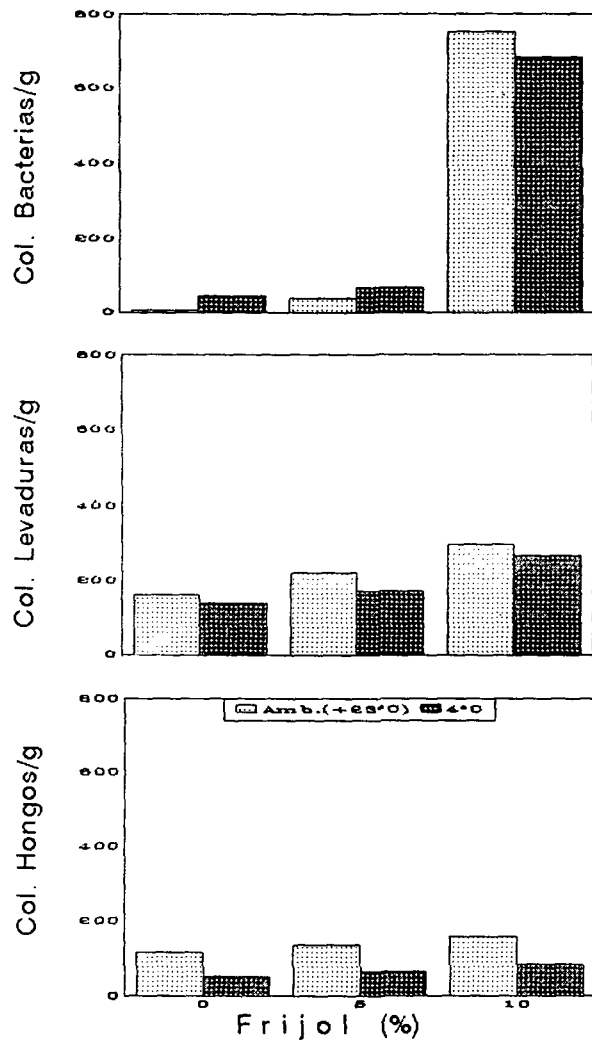
UB= Unidades Brabender

&= Letras iguales no hay diferencia estadística

$\alpha = 0.05$

En la evaluación de la viscosidad de las masas se encontró que el tiempo de nixtamalización y la adición de frijol afecta significativamente la temperatura inicial de gelatinización, mientras que las viscosidades máxima y final fueron estadísticamente iguales (Tabla 3). En este estudio las masas fueron de fácil manejo y buena cohesividad, facilitándose la elaboración de las tortillas, esto coincide con lo señalado por otros autores (13,14) quienes han informado que el pico de viscosidad máxima se relaciona con la plasticidad de la masa. Numéricamente en el tratamiento de 20 min, la viscosidad máxima y final y fueron superiores a las del tratamiento de 40 min, indicando que tiempos cortos de cocción gelatinizan menos almidón que tiempos más largos. Con 20 min de cocción, también se observa una tendencia hacia la disminución de las viscosidades conforme se incrementa el porcentaje de frijol, lo cual pudiera deberse a un mayor grado de gelatinización de los almidones de frijol durante la nixtamalización ya que estos estaban sin testa. Con 30 y 40 min de nixtamalización no se observa un comportamiento claro del efecto en estos parámetros.

FIGURA 2
Cuenta microbiana en tortillas con 48 horas de almacenamiento



En los tres tiempos de cocción estudiados los contenidos de proteína, cenizas y fibra de tortillas fueron semejantes, y a mayor porcentaje de frijol en la mezcla, el contenido de proteína se incrementan de manera directa (Tabla 2). Esto concuerda con lo obtenido por Mendoza (8), quien señaló que a pesar de las pérdidas de sólidos, el frijol mejora las proteínas de la tortilla. El tratamiento con 10% de frijol y 30 min de nixtamalización tuvo 11.8% de proteína, siendo superior en un 26.3% en relación con el testigo (8.7%) (Tabla 2) y 42.5% con respecto a un testigo comercial (6.2%) (15).

El análisis sensorial mostró que las tortillas con 30 min de cocción y recién hechas fueron las de mayor aceptación, encontrándose diferencias estadísticas únicamente con respecto al testigo comercial (Tabla 4). Estas mismas tortillas después de 24 y 48 horas tanto a temperatura ambiente como en refrigeración (4 °C), tuvieron calificaciones semejantes

entre ellas, pero inferiores con respecto a las recién hechas. Las tortillas de los tratamientos con 40 min de cocción fueron calificadas como productos con sabor a cal.

En las pruebas microbiológicas se encontró que la cantidad de bacterias y levaduras en las tortillas, aumentó conforme se incrementó el porcentaje de frijol endurecido. En hongos se observaron diferencias significativas ($\alpha=0.05$) entre ambientes pero no entre tratamientos almacenados bajo la misma condición.

TABLA 4
Evaluación sensorial de tortillas recién hechas y nixtamalizadas durante 30 min

Tratamientos	Olor*	Color*	Sabor*	Facilidad de enrollado*
100% maíz	5 a&	7 a	6 a	6 a
5% frijol	7 a	6 a	7 a	7 a
10% frijol	6 a	6 a	7 a	7 a
Testigo comercial	4 b	3 b	4 b	5 a

* Escala edónica: 1-Disgusta mucho. 2= Disgusta moderadamente. 3= Disgusta ligeramente. 4= Ni gusta ni disgusta. 5= Gusta ligeramente. 6= Gusta moderadamente. 7= Gusta mucho.
&= Comparación de medias mediante la prueba de Tukey, letras iguales significa que no hay diferencia estadística $\alpha=0.05$

CONCLUSIONES

La nixtamalización de maíz-frijol endurecido puede hacerse simultáneamente, lográndose una mayor absorción de agua, masas de fácil manejo durante la elaboración manual de las tortillas y un ligero incremento en el rendimiento tortillero. Las tortillas con 90% de maíz y 10% de cotiledón de frijol (libre de testa) proporcionaron el mayor porcentaje de proteína (11.8%) siendo superior al testigo (8.7%) en un 26.3%.

En el análisis sensorial, las tortillas recién hechas, con 10% de frijol endurecido y 30 min de cocción fueron las de mejor sabor y facilidad al enrollado, a pesar de que en la evaluación instrumental fueron las tortillas más duras. El crecimiento de microorganismos fue directamente proporcional al porcentaje de frijol adicionado. Así las tortillas con 10% de frijol son las de más proteína pero también en las que más colonias de bacterias y levaduras se desarrollan, siendo mayor en las almacenadas a temperatura ambiente.

REFERENCIAS

- Bernal I. Informe especial. Causas del endurecimiento del frijol. Agro-Síntesis. 1988; 19 (9):25-28.
- Bressani R. El significado alimentario y nutricional del endurecimiento del frijol. En: Simposio sobre el problema del endure-

- cimiento del frijol (*Phaseolus vulgaris*). Arch Lat Nutr 1982;32:308-325.
3. Gómez HM, Rooney LW, Waniska RD & Pflugfelder LR. Dry corn masa flours tortilla and snack food. Cereal Food Word 1987; 32 (5):372-377.
 4. Katz HS, Hediger ML & Valleroy LA. Traditional maize processing techniques in the new world. Science 1974; (184):765.
 5. Trejo-González A, Feria-Morales A & Will-Altamirano Will. The role of lime in the alkaline treatment of corn for tortilla preparation. Adv. Chem Ser. 1982;198:245-263.
 6. Serna-Saldivar SO, Rooney LW & Greene LW. Effects of lime treatment on the bioavailability of calcium in diets of tortillas and beans: bone and plasma composition in rats. Cereal Chem 1992; 69 (1):78-81.
 7. Vásquez-Carrillo MG, Ortega-Delgado ML y Estrada Lugo E. Harina de frijol endurecido (*Phaseolus vulgaris* L.) en la preparación de pan. Arch Lat Nutr 1991; 41:620-630.
 8. Mendoza RE. Uso del frijol endurecido en la elaboración de tortillas. Tesis de licenciatura. Dpto. de Industrias Agrícolas. UACh. Chapingo, México, 1989.
 9. Association of Official Agricultural Chemists (AOAC), Official Methods of Analysis, 14a ed. Washington D.C., USA. 1984.
 10. Conover WJ. Practical Nonparametric Statistics. 2nd Edition John Wiley and Sons. USA. 1980.
 11. Elías G, García S y Bressani R. Métodos para establecer la calidad tecnológica y nutricional del frijol (*Phaseolus vulgaris*). Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP). Publicación L-33, 1986.
 12. Vásquez-Carrillo MG y Cárdenas F. Características físicas, tecnológicas y proteínicas de frijoles (*Phaseolus vulgaris* L.) silvestres y cultivados. Arch Latinoamer Nutr 1992; 42 (2):201-209.
 13. Salinas Y, Castillo J. Vásquez G. Aspectos reológicos y de textura en masa y tortilla de maíz (*Zea mays* L.). Alimentos 1995; 20:51-57.
 14. Molina MR. Letona M & Bressani R. Drum drying for the improved production of instant tortilla flour. J Food Science 1977; 42:1432-1434.
 15. Vásquez-Carrillo MG, Márquez AR y Márquez F. Características físicas y químicas del compuesto pepitilla de maíz. Revista Fitotecnia 1990; 13:117-128.

Recibido: 11-01-1996

Aceptado: 04-07-1997

Elaboración de una harina integral de yuca (*N. esculenta Crantz*) para alimentación de pollitos de engorde. I. Caracterización químico-nutricional de hojas, raíces y harina integral de yuca

Julio Ballinas Díaz¹, Carlos Cruz Mondragón², Rutilo Castellanos Molina³ y Alfredo Larios Saldaña²

Dpto. de Biotecnología y Bioingeniería, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, México, D.F.

RESUMEN. Las raíces de yuca son usadas frecuentemente como una fuente de energía en raciones para animales. Las hojas debido a su alto contenido de fibra no son usadas en alimentos para animales no obstante que ellas tienen un buen contenido de proteína y un nivel balanceado de aminoácidos esenciales. El objetivo de esta investigación fue producir una harina integral de yuca (HIY) con bajo contenido de fibra para usarse en alimentación de pollitos. Hojas y raíces por separado, fueron deshidratadas a 60 °C por 20 h, molidas en molino de martillos y cernidas en un tamiz de malla 60. Por este procedimiento fueron obtenidas una harina de raíz (HTY) y una harina de hojas (HHY). El contenido de fibra en HHY fue reducido 25.8% y el contenido de proteína fue incrementado 8.2%. La HIY fue elaborada con 61.2% de HRY y 38.8% de HHY, teniendo un contenido de proteína, y fibra de 9.15%, y 9.73%, respectivamente. La Energía Metabolizable Verdadera (EMV) de HIY fue 2,454 kcal/kg con una biodigestibilidad promedio de los aminoácidos de 68.8%. Palabras clave: Harina integral, yuca, pollitos, fibra.

SUMMARY. Production of cassava whole meal (*N. esculenta Crantz*) to elaborate a feed growing chicks. I. Chemical and nutritive characterization of leaves, roots and cassava whole meal. Cassava roots are frequently used as a energy source in feeds. The leaves due to their high fiber content, are not used in animal feeds despite they have a good content of protein and a balanced level of essential amino acids. The purpose of this research was to produce a cassava whole meal (CWF) with low content of fiber for using in chick feed. Leaves and roots of cassava by separated, were dried at 60 °C for 20 h, ground in a hammermill and passed through a 60 mesh sieve. By this procedure a root flour (CRF) and a leaves flour were obtained (CLF). The fiber content in CLF was reduced 25.8% and the protein content was increased 8.2%. The CWF was made with 61.2% of CRF and 38.8% of CLF, having a protein and fiber content of 9.15% and 9.73%, respectively. The True Metabolizable Energy of CWF was 2,454 kcal/kg with an average true bioavailability of aminoacids of 68.8%.

Key words: Whole meal, cassava, chicks, fiber.

INTRODUCCION

La producción comercial de animales domésticos tiene como objetivo principal la conversión de ingredientes alimenticios de bajo costo a alimento para consumo humano. Por tanto, se deben buscar ingredientes abundantes y baratos que puedan sustituir a los ingredientes tradicionales (maíz, sorgo, harina de soya) en la alimentación de las aves. La planta de yuca es uno de los ingredientes potenciales que podrían sustituir total o parcialmente los granos en la alimentación de aves. Los inconvenientes tanto de las raíces como de las hojas de yuca, en la alimentación de las aves, se debe básicamente

a que las primeras, aunque muy ricas en carbohidratos, son muy pobres en cantidad y calidad de proteína (1), no así las hojas que tienen altos valores de proteína (2) con buen perfil de aminoácidos (3), pero con cantidades relativamente importantes de taninos unidos a proteínas (4) y altos valores de fibra (1,3), lo cual limita su utilización en la alimentación de animales monogástricos (5,6). Los cianuros se considera que tienen un efecto poco importante en el crecimiento de las aves ya que el contenido de éstos se reduce por el calor aplicado en la deshidratación (7,8) hasta niveles no tóxicos (9), considerando un tiempo de exposición relativamente corto.

Por tanto, el objetivo de esta investigación fue elaborar y caracterizar química y nutricionalmente una harina integral de yuca con niveles bajos de fibra.

MATERIALES Y METODOS

Evaluación analítica de la yuca: Hojas y raíces de yuca fueron primero analizados para Materia Seca (MS), Nitrógeno

1. Estudiante de Doctorado del Departamento
2. Profesores Auxiliares del Departamento
3. Profesor Titular del Departamento

Total (NT), Cenizas, Grasa (EE), Humedad, Cianuro y Digestibilidad in vitro por los métodos descritos por la Association of Official Analytical Chemists (10). La Fibra Detergente Neutra (FDN) se determinó por el método de Van Soest and Wine (11) y la Fibra Cruda (FC) por el método de Van de Kamer and Van Ginkel (12).

Reducción del contenido de fibra en hojas: Hojas frescas libres de pedúnculo fueron deshidratadas en horno de convección a 60 °C durante 20 h. Subsecuentemente las hojas secas fueron molidas en un molino de martillos con malla de 2 mm de diámetro. Entonces, 100 g de hojas pulverizadas se pasaron a través de una serie de siete tamices con número de malla de 30, 50, 60, 80, 100, 120 y 200. Las fracciones retenidas en cada tamiz fueron analizadas para Fibra (FDN), Proteína Cruda (N x 6.25), EE y Cenizas.

Elaboración de harina de hojas: La harina de hojas (HHY) rica en proteínas y baja en fibra se elaboró combinando todas las fracciones que pasaron el tamiz con malla 60.

Elaboración de harina de raíces: Raíces frescas previamente rebanadas fueron deshidratadas en un horno de convección a 60 ° durante 20 h. Las rebanadas secas fueron molidas en un molino de martillos con malla de 2 mm de diámetro. Luego, las raíces pulverizadas se pasaron a través de un tamiz con malla 60. Las partículas que pasaron la malla 60 constituyeron una harina baja en proteínas y ricas en carbohidratos (harina de raíz de yuca, HRY).

Elaboración de harina integral de yuca: La Harina Integral (HIY) se elaboró combinando 61.2% de HRY con 38.8% de HHY, de tal manera que su contenido de proteína cruda fuese similar al de sorgo.

Análisis de aminoácidos: El análisis cuantitativo de aminoácidos fue realizado por cromatografía de intercambio iónico (13) en un Autoanalizador Beckman 118 CL, posterior a la hidrólisis con HCl 6N a 110 °C durante 24 h en tubos sellados. Triptófano, metionina y cisteína no fueron cuantificados.

Determinación de Energía Metabolizable y Biodigestibilidad de Aminoácidos: La Energía Metabolizable Verdadera (EMV) se determinó siguiendo el procedimiento de Sibbald (14,15) con variaciones mínimas (raza y edad de animales). Diez gallos blancos Leghorn convencionales de 40 semanas de edad, se mantuvieron en jaulas individuales con sobre pisos de alambre en un recinto ambientalmente regulado y provistos con 16 h de luz diariamente. Agua y alimento fueron proporcionados para consumo ad libitum antes de iniciar el experimento. Seguido de un período de 30 h de privación de alimento, a cinco gallos se les proporcionó 30 g de HIY vía intubación al buche. Cinco aves adicionales fueron privadas de alimento a través del período experimental para medir la energía endógena excretada. La excreta fresca recolectada en charolas de plástico después de 30 h, fue deshidratada a 60 °C en un horno con flujo de aire caliente, pesadas y molidas a un tamaño de partícula de malla 60. Las muestras de HIY y excretas fueron analizadas para

nitrógeno Kjeldahl, y la Energía Bruta fue obtenida usando una bomba calorimétrica adiabática de oxígeno.

La biodigestibilidad de los aminoácidos se calculó con las ecuaciones propuestas por Likuski et al (16) considerando las concentraciones de aminoácidos en HIY y en excretas.

RESULTADOS Y DISCUSION

Análisis proximal, contenido de cianuros y aminoácidos en hojas y raíces de yuca: Como etapa preliminar se describe la composición química proximal, el contenido de cianuros y la composición de aminoácidos, de raíces y hojas de yuca. En raíces (Tabla 1) los carbohidratos solubles (ELN) representan el 86%, lo cual ubica a esta planta como una fuente de energía principalmente, según datos publicados anteriormente (17,18). Collins y Temalilwa (19) reportan valores muy bajos de proteína en raíces, lo cual coincide con el dato de 11% encontrado en el presente trabajo. En hojas, los valores de proteína y fibra son relativamente altos respecto a los mismos datos en las raíces, lo cual ha sido señalado por otros investigadores (20, 21). El valor de fibra cruda para los propósitos de esta investigación es de suma importancia ya que la HIY será destinada a la alimentación de aves, en las cuales se recomienda un máximo de 4% de fibra (5). Los datos encontrados de 7.25% en raíces, y de 20.72% en hojas está dentro del rango publicado (20,21). De la Tabla 2 se puede estimar el contenido de aminoácidos esenciales de la proteína de raíz, hallando valores muy similares a los reportados por Ravindran et al (3), quienes además establecen que la proteína de la raíz de yuca, es de baja calidad respecto a los aminoácidos esenciales, cuando se comparan con proteínas de cereales o de origen animal. La proteína foliar (Tabla 2) sin embargo es considerada de alto valor nutricional con metionina como único aminoácido limitante (3). El contenido de cianuro en la yuca varía ampliamente dependiendo de factores tales como variedad, edad, fertilización, clima, parte de la planta, etc. (9). Los valores encontrados experimentalmente indican que la variedad botánica estudiada (Tabla 3) es una variedad «amarga» con valores entre 170 ppm (raíz) y 473 ppm (hojas) en estado fresco. Toxicológicamente, la yuca se considera potencialmente nociva tanto para animales como para el hombre cuando la concentración de cianuro en el material es superior a 50 ppm (9). En este trabajo la deshidratación a 60 °C de hojas y raíces redujo la concentración de cianuro a 10 ppm en hojas y a 5 ppm en raíces (Tabla 3). Al respecto, Gómez et al (7) hallaron que el secado de la yuca, independientemente de la variedad, reduce importantemente el contenido de cianuro en más de 80%, con lo cual demuestran que la deshidratación de este material sirve como un proceso de desotoxicación tanto del cianuro libre como del cianuro en forma de glucósido. En este caso la reducción del contenido de cianuro en ambas partes de la planta fue de 97%, de lo cual se deduce que la yuca deshidratada de esta forma es prácticamente inocua.

TABLA 1
Composición de yuca deshidratada

Análisis	g/100 g	
	Raíz	Hoja
Proteína cruda (6.25 x N)	1.04	20.21
Extracto etéreo	2.85	7.77
Fibra cruda ^a	7.25	20.72
FND ^b	9.95	41.97
Cenizas	2.85	7.25
ELN ^c	86.01	44.05

a Determinada como celulosa (12)

b Fibra neutro detergente

c Extracto libre de nitrógeno

TABLA 2

Composición y biodigestibilidad de aminoácidos de HHY, HIY y excretas de gallos

Aminoácido	HHY	HIY	Excreta		CD	
			SHIY	CHIY	A	V
			g/100 g			
Histidina	0.65	0.27	0.30	0.39	27.64	44.41
Treonina	1.14	0.43	0.71	0.63	26.60	51.52
Tirosina	0.88	0.39	0.42	0.50	35.79	52.04
Serina	1.21	0.50	0.79	0.69	30.85	54.71
Prolina	1.18	0.44	0.68	0.57	35.13	58.45
Glicina	1.30	0.52	0.85	0.63	39.32	63.99
Arginina	1.23	0.58	0.53	0.47	59.41	73.21
Lisina	1.29	0.61	0.68	0.52	57.32	74.14
Valina	1.39	0.50	0.60	0.41	58.93	77.05
Alanina	1.38	0.55	0.70	0.44	59.93	79.14
Ac. aspártico	2.35	0.95	1.25	0.73	61.51	81.37
Leucina	2.09	0.86	1.14	0.50	70.88	90.89
Isoleucina	1.08	0.37	0.54	0.21	71.58	93.60
Ac. glutámico	3.05	1.19	1.97	1.40		
Fenilalanina	1.41	0.51	0.59	0.14		

HHY: Harina de hojas de yuca, HIY: Harina integral de yuca, SHIY: Excreta de gallos privados de HIY, CHIY: Excreta de gallos alimentados con HIY, CD: Coeficiente de digestibilidad, A: Aparente, V: Verdadera

Reducción del contenido de fibra: El objetivo del presente trabajo fue producir una HIY con un nivel reducido de fibra para usarla en la alimentación de pollos de engorde, por tanto en esta sección experimental se trabajó con hojas de yuca, cuya principal limitación en monogástricos es su alto contenido de fibra (20.72% FC ó 41.97% FDN) en comparación con la raíz (7.25% FC ó 9.95% FDN) o los cereales (5,6). El material foliar contiene en el citoplasma de sus células las sustancias solubles, incluidas diversos tipos de proteínas (22,23). Para extraer éstas es necesario romper y eliminar la pared celular.

TABLA 3
Contenido de cianuro en yuca

Condiciones de las muestras	ppm		
	a	b	c
Raíz fresca con piel	170	73	-
Raíz fresca sin piel	87	53	-
Raíz seca con piel ^d	5	-	-
Hojas frescas	473	245	127
Hojas secas ^d	10	-	-

a 40 h después de la cosecha,

b 1 mes en congelación,

c 2 meses en congelación,

d Deshidratadas a 60 °C (material usado en este experimento).

La Tabla 4 muestra el análisis de PC, FND, EE y Cenizas de fracciones de harina de hojas de yuca. Los datos de esta tabla muestran que la concentración de proteína aumentó en promedio 8.18% y la concentración de FND disminuyó en promedio 25.83%. El análisis de los datos de EE y cenizas de las fracciones retenidas en cada uno de los tamices probados, muestra que la concentración de EE aumenta y la concentración de cenizas disminuye conforme el tamaño de partícula se reduce. Los incrementos relativamente bajos de proteína y EE, así como las disminuciones ligeramente grandes de fibra y cenizas se pueden explicar en dos formas: primero, que la ruptura celular no es completa o el molino produce material fibroso cuyo tamaño de partícula es muy pequeño por lo cual se combina fácilmente con material citoplásmico de dimensiones semejantes, lo cual dificulta la separación. Por otro lado, si las partículas son de tamaño realmente diferente, las más pequeñas (supuestamente material citoplásmico) se adhieren a las partículas de mayor tamaño (segmentos de pared celular), complicando su separación. Esta suposición se refuerza por el hecho de que la concentración del material grasoso (EE) aumenta inversamente proporcional al tamaño de partícula, y los minerales (cenizas) lo hacen en proporción directa. En relación a la determinación de fibra cabe enfatizar las conclusiones de Ehale (24), quien señala que, entre más pequeño es el tamaño de partícula, mayor es la subestimación de la concentración de fibra, ya que la porosidad del filtro influye considerablemente en su cuantificación. Por tanto, en este trabajo, la reducción del contenido de fibra podría estar sobreestimado.

La Tabla 5 proporciona la composición proximal de los tres productos de yuca (HHY, HRY y HIY) y el sorgo. Este último se incluyó en esta tabla con la finalidad de establecer los puntos de similitud y las diferencias entre la HIY y el sorgo la única similitud es respecto al contenido de proteína, puesto que el contenido de proteína del grano fue la base de cálculo para obtener la HIY como una mezcla de HHY y HRY. Respecto al sorgo, el contenido de fibra de la HIY fue superior

en 2.9 (fibra cruda) y en 1.5 (FDN) veces. Por tanto, la inclusión de HIY en dietas para aves se estima que sea en niveles bajos. El contenido de extracto etéreo de la HIY es 1.4 veces mayor que el sorgo; sin embargo, la composición química de ambos extractos es diferente. En el sorgo son básicamente triglicéridos y en la HIY pigmentos (25), que potencialmente podrían favorecer la pigmentación de la piel en pollitos en crecimiento. La relación del contenido de cenizas HIY/sorgo es ligeramente superior a 2.0. Este dato es interesante en el sentido de que la HIY podría ser una fuente importante de minerales, los cuales son fundamentales para el crecimiento de las aves. Por otro lado, el contenido de carbohidratos solubles (ELN) de la HIY es 12% menor que el sorgo, lo cual equivale a un menor valor de EM.

TABLA 4

Composición química de fracciones de harina de hojas de yuca retenidas en una serie de tamices

Número de malla	Proteína cruda	Extracto etéreo	FND	Cenizas
	g/100 g			
HHYC ^a	20.20	—	42.0	—
30	20.20	—	41.8	7.8
50	20.35	7.9	36.75	6.8
60	20.55	8.2	34.80	6.3
80	22.15	8.5	33.75	5.9
100	22.70	11.40	32.75	5.7
120	23.30	11.60	32.60	5.5
200	24.80	11.70	32.15	5.5
FR60 ^b	20.4	7.8	36.2 ^d	6.6
FNR60 ^c	22.0	9.8	31.2 ^e	5.6

a Harina de hojas de yuca completa,

b Suma de fracciones retenidos en tamiz de malla 60,

c Suma de fracciones no retenidas en tamiz de malla 60.

d 16.7% de fibra cruda,

e 15.8% de fibra cruda. FND: fibra neutra detergente.

Incremento de proteína= $(22.0 - 20.2) \times 100/22.0 = 8.18\%$

Reducción de fibra= $(42.0 - 31.15) \times 100/42.0 = 25.83\%$

Energía metabolizable y biodigestibilidad de aminoácidos: Los cálculos de EMV para la HIY (61.2% de HRY + 38.8% de HHY) rindieron un valor experimental promedio de 2.454 kcal/kg, y una digestibilidad in vitro, respecto a caseína de 83.5%. El valor de EMV para la HIY es razonable si se considera que para la HRY se reportan datos de 2,960 a 2,980 kcal/kg (5). Usando un valor medio de 2,970 kcal/kg para HRY, la HHY produciría teóricamente 1,640 kcal/kg de EMV, valor ligeramente inferior al de la harina de alfalfa (1,650 kcal/kg), según Avila (5). Es importante enfatizar que la HHY y la HRY incluidas en la formulación de la HIY tienen características físicas particulares ya que no se usaron

en su forma integral, sino como una fracción cernida en tamiz de malla 60. La biodigestibilidad in vitro de la HIY proporciona información relativa a la susceptibilidad al rompimiento enzimático de las proteínas de la yuca, que en este caso es sólo 16.5% menor a la caseína. Sin embargo, la biodigestibilidad promedio de los aminoácidos de la HIY fue 68.8% (Tabla 2), valor algo inferior a la digestibilidad in vitro, situación que se esperaba a causa de las condiciones disímiles en que se llevaron a cabo ambos experimentos.

TABLA 5

Composición proximal de productos de yuca y sorgo

Ingrediente	Proteína	Extracto	Fibra	FDN ¹	Cenizas	ELN ²
	Nx6.25	etéreo	cruda	g/100g		
HHY ³	21.10	9.90	15.90	31.20	5.70	47.40
HRY ⁴	0.91	3.16	5.64	9.58	1.82	88.47
HIY ⁵	9.15	6.16	9.73	18.67	3.54	71.42
Sorgo	9.56	4.45	3.32	12.53	1.65	81.02

1. Fibra detergente neutra;
2. Extracto libre de nitrógeno,
3. Harina de hoja de yuca que pasa malla 60;
4. Harina de raíz de yuca que pasa malla 60,
5. Harina integral de yuca

REFERENCIAS

1. Grace MR. Elaboración de la yuca. Colección FAO: Producción y protección vegetal. Roma, Italia, 1977.
2. Rogers DJ. Cassava leaf protein. *Economic Botany* 1959; 13:264-267.
3. Ravindran V, Kornegay ET & Cherry JA. Feeding values of cassava tubers and leaf meals. *Nutr. Reports Intern.* 1983;28:189-195.
4. Reed JD, McDowell RE, Van Soest PJ & Horvath PJ. Condensed tannins: a factor limiting the use of cassava forage. *J Sci Food Agric* 1982;33:213-220.
5. Avila GE. Alimentación de las aves. México, D.F., Ed. Universidad Nacional Autónoma de México, 1990.
6. NRC. National Research Council. *Nutrient Requirements of Poultry*. 9th Rev. Washington, DC. Ed. National Academy Press, 1994.
7. Gómez G, Valdivieso M, De la Cuesta D & Salcedo T. Effect of variety and age on the cyanide content of whole-root cassava chips and its reduction by sun-drying. *Animal Feed Sci Technol* 1984;11:57-65.
8. Gómez G & Valdivieso M. Cassava foliage: chemical composition, cyanide content and effect of drying on cyanide elimination. *J Sci Food Agric* 1985;36:433-441.
9. Delange F y Ahluwalia R. Toxicidad de la yuca y tiroides. Canadá. Centro Internacional de Investigaciones para el Desarrollo. Seminario de Ottawa 1982.
10. Association of Official Analytic Chemists. *Official Methods of*

- Analysis of The AOAC. 14th ed. Washington, DC. The Association, 1984.
11. Van Soest PJ & Wine RH. Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. IV Determination of plant cell-wall constituents. *J Assoc Off Chem* 1967;50:50-55.
 12. Van de Kamer JH & Van Ginkel L. Rapid determination of crude fiber in cereals. *Cereal Chem* 1952;46:825-829.
 13. Spackman DH, Stein WH & Moore S. Automatic recording apparatus for use in the chromatography of amino acids. *Anal Chem* 1958;30:1190-1206.
 14. Sibbald IR. A bioassay for true metabolizable energy in feedstuffs. *Poultry Sci* 1976;55:303-308.
 15. Sibbald IR. The effect of the duration of the excreta collection period on the true metabolizable energy values in feedstuffs with slow rates of passage. *Poultry Sci* 1979;58:896-899.
 16. Likuski HJ & Dorrell HG. A bioassay for rapid determination of amino acid availability values. *Poultry Sci* 1978; 57:1658-1660.
 17. Lancaster PA, Ingram M, Lym MY & Coursey DG. Traditional cassava-based foods: survey of processing techniques. *Economic Botany* 1982;36:12-45.
 18. Muindi PJ & Hanssen JF. Nutritive value of cassava root meal enriched by *Trichoderma Harzianum* for chickens. *J Sci Food Agric* 1981;32:647-654.
 19. Collins JL & Temalilwa CR. Cassava (*Nanipotesculenta Crantz*) flour fortification with soy flour. *J Food Sci* 1981;46:1025-1028.
 20. Okezie BO & Kosikowski FV. Cassava as a food. *CRC-Crit Rev Food Sci Nutr* 1981;17:259-274.
 21. Stevenson MH. The nutritional value of cassava root meal in laying hen diets. *J Sci Food Agric* 1984;35:36-40.
 22. Pirie NW. Leaf protein: its agronomy, preparation, quality and use. U.K., Blackwell Scientific Publications, Handbook N° 20, 1971.
 23. Pirie NW. Leaf proteins a food source. *Experientia* 1982;38:28-31.
 24. Ehale FR. Influence of particle size on determination of fibrous feed components. *J Dairy Sci* 1984;67:1482-1499.
 25. Nesheim MC, Austin RE & Card LE. Poultry production. Philadelphia, USA. 12th Ed., Lea & Febiger, 1979.

Recibido: 19-04-1996

Aceptado: 19-09-1997

Elaboración de una harina integral de yuca (*N. esculenta* Crantz) para alimentación de pollitos de engorde. II. Evaluación de una harina integral de yuca en pollitos de engorde

Julio Ballinas Díaz¹, Alfredo Larios Saldaña², Carlos Cruz Mondragón², Rutilo Castellanos Molina³ y Ernesto Avila González⁴

Dpto. de Biotecnología y Bioingeniería, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, México, D.F.

RESUMEN. Aproximadamente, 50% de las materias primas usadas para alimento de pollos está constituido de sorgo como fuente de energía. El objetivo de esta investigación fue evaluar la calidad nutrimental de una harina integral de yuca (HIY: 61.2% y 38.8% de harinas de raíz y hoja, respectivamente) para pollitos en crecimiento. El sorgo fue sustituido parcialmente de una dieta base por 15, 30 y 45% de HIY. Cuatro dietas a base de sorgo, harina de soya y HIY fueron formuladas. Niveles de 0.0, 8.6, 16.4 y 23.7% de HIY fueron incluidos en las dietas. Pollitos Vantress blancos (96) fueron usados en el experimento durante 28 días. Cada tratamiento fue probado con 24 pollitos. La dieta con 23.7% de HIY mostró menor ganancia de peso y eficiencia alimenticia ($p < 0.05$) al compararla con las otras dietas, y la relación peso hígado: peso ave aumentó en forma directa con el incremento de HIY en las raciones.

Palabras clave: Harina integral, yuca, pollitos de engorde, evaluación.

SUMMARY. Production of cassava whole meal (*N. esculenta* Crantz) to elaborate a feed growing chicks. II. Evaluation of cassava whole meal in growing chicks: About 50% of the raw materials used for poultry feeds are constituted of sorghum as a energy source. The purpose of this work was to evaluate the nutritional quality of a cassava whole meal (CWF: 61.2% and 38.8% of root and leaf flours, respectively) for growing chicks. The sorghum was partially substituted from a basal diet by 15, 30 and 45% of CWF. Four diets based of sorghum, soybean meal and CWF were formulated. Levels of 0.0, 8.6, 16.4 and 23.7% of CWF were included in the diets. White Vantress chicks (96) were used in the nutritional experiment during 28 days. Each treatment was assayed with 24 chicks. The diet containing 23.7% of CWF showed the lower weight gain and feed efficiency ($p < 0.05$) as compared with the other diets, and the liver/bird weight relation increased directly with the increment of CWF. Key words: Whole meal, cassava, growing chicks, evaluation.

INTRODUCCION

Los precios inaccesibles y el suministro restringido de granos de cereales han llevado a los especialistas en nutrición animal a buscar fuentes alternativas más económicas de energía y proteína para alimentación de animales. Estudios económicos (1,2) han estimado que en la producción comercial de aves, el alimento representa 50-70% del total del costo de producción. Para abatir costos, se deben investigar ingredientes abundantes y baratos que puedan sustituir a los ingredientes tradicionales en la alimentación de las aves. La yuca es uno de los ingredientes potenciales que podrían sustituir total o parcialmente a los granos en la alimentación de aves. Existe evidencia de que los productos de yuca pueden ser usados

como sustitutos de ciertos cereales en raciones nutrionológicamente balanceadas para algunos tipos de animales (3,4). El maíz se ha sustituido en 0, 33, 67 y 100% por harina de raíz de yuca en dietas para pollitos en crecimiento, encontrando una disminución en la ganancia de peso y en la eficiencia de conversión a medida que la proporción de yuca se incrementó (5). Las hojas de yuca han sido propuestas como forrajes con alto contenido de proteína (6). Como harina, las hojas pueden ser un suplemento proteínico adecuado para pollos cuando se proporciona en niveles menores de 10% de la ración (7). En codornices, la harina de hojas de yuca (HHY) se ha empleado en niveles de 2.5, 5.0, 7.5 y 10.0% sin encontrar diferencias significativas en la ganancia de peso, respecto al control con maíz-soya (8).

Por tanto, el objetivo de esta investigación fue evaluar nutrimentalmente, en pollitos de engorde, una harina integral de yuca (HIY) elaborada con 61.2% de harina de raíz de yuca (HRY) y 38.8% de harina de hoja de yuca (HHY).

1. Estudiante de Doctorado del Departamento
2. Profesores Auxiliares del Departamento
3. Profesor Titular del Departamento
4. Investigador del Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias de la SARH.

MATERIALES Y METODOS

Elaboración de harina integral de yuca (HIY): Fue elaborada de acuerdo a los descritos por Balinas y col. (9). Mezclar 61.2% de harina de raíz con 38.8% de harina de hoja de yuca.

Evaluación analítica de ingredientes: El sorgo, la harina de soya y la HIY usados en todas las dietas experimentales fueron del mismo lote. Estos tres ingredientes fueron primero analizados para nitrógeno total, cenizas, grasa, humedad y digestibilidad *in vitro* por los métodos descritos por la Association of Official Analytical Chemists (10). La Fibra Detergente Neutra (FDN) se determinó por el método de Van Soest and Wine (11) y la Fibra Cruda (FC) por el método de Van de Kamer and Van Ginkel (12).

Experimento con pollitos: Un experimento con 96 pollitos blancos Vantress machos fue llevado a cabo durante 28 días. Con cuatro días de edad y peso inicial promedio de 34.5 g los pollitos fueron enjaulados en una batería iniciadora termostáticamente controlada, con sobrepisos de alambre, permitiéndoles acceso *ad libitum* al agua y al alimento. Luz uniforme fue proporcionada por 24 h diariamente. Las aves fueron alimentadas con una dieta comercial (Purina) durante los tres primeros días previos al experimento. Se formularon cuatro dietas isocalóricas e isoproteínicas (Tabla 1). La presentación de las dietas fue en forma semigranulada. Cada una de las dietas fue proporcionada a un grupo de 24 pollitos (tres replicas, cada replica con ocho pollitos). Los tratamientos consistieron de una dieta control sin HIY a base de sorgo y harina de soya, y dietas con 8.6, 16.4 y 23.7% de HIY (15,30 y 45% de sustitución del sorgo por HIY, respectivamente). El consumo de alimento y el peso corporal de cada grupo fue medido semanalmente durante cuatro semanas, y con estos valores fue calculada la ganancia de peso y la eficiencia alimenticia (relación ganancia de peso: consumo de alimento).

Al finalizar el experimento, dos aves de cada tratamiento fueron elegidas aleatoriamente, pesadas y sacrificadas con formol. Los pesos del bazo, corazón, páncreas e hígado también fueron registrados.

Análisis estadístico: Los datos del experimento con pollitos fueron analizados aplicando la Técnica de Análisis de Varianza para diseños completamente aleatorizados (variación de clasificación simple). Las diferencias entre las medias de los tratamientos individuales fueron estimadas usando la prueba de la diferencia mínima significativa (14).

TABLA 1
Composición química de las dietas para pruebas con pollitos

Ingredientes y análisis	Nivel de harina integral de yuca			
	A ¹	B	C	D
	g/100g			
HIY ^a (9,15% PC)	0	8,59	16,43	23,74
Sorgo (9,56% PC)	56,20	46,74	37,53	28,59
Harina de soya (44,84% PC)	38,08	38,12	38,39	38,73
Carbonato de calcio	1,33	1,33	1,33	1,33
Cloruro de sodio	0,40	0,40	0,40	0,40
Ortofosfato	1,86	1,86	1,86	1,86
Mezcla de minerales ¹	0,03	0,03	0,03	0,03
Mezcla de vitaminas ¹	0,20	0,20	0,20	0,20
Lisina	0,11	0	0	0
Metionina ³	0,24	0,13	0,13	0,13
Aceite de soya	1,55	2,61	3,69	4,99
Proteína cruda (Nx6,25)	21,00	20,83	20,99	20,86
Extracto etéreo	4,93	6,32	7,23	9,01
Fibra cruda	7,17	7,27	7,37	7,71
FDN	14,56	14,74	15,07	15,20
Cenizas	6,72	7,09	7,26	7,17
ELN ⁴	60,18	59,29	57,75	55,35
HCN ⁵	0,006,02E-05		1,15E-04	1,66E-04
EMV ⁶ kcal/kg	2.882	2.881	2.877	2.889

1) Fórmula de Avila (13). 2) Reemplaza al sorgo en 15% (B), 30% (C) y 45% (D), respectivamente. 3) No disponible en cantidad suficiente para las dietas B, C y D. 4) Extracto libre de nitrógeno. 5) La HIY contiene 7ppm de HCN. 6) Energía metabolizable verdadera.

RESULTADOS Y DISCUSION

Digestibilidad de las dietas: La Tabla 2 muestra la digestibilidad en pepsina de cada una de las dietas elaboradas con base en la Tabla 1. Respecto a caseína, las dietas fueron 14-17% menos digestibles, pero los valores de digestibilidad de las dietas fueron estadísticamente iguales ($p > 0.05$), mostrando una ligera tendencia a disminuir la digestibilidad conforme el nivel de HIY se incrementa en las dietas. Esta ligera reducción (85.92 - 83.11%) de la digestibilidad de las dietas se atribuyen al ligero incremento del contenido de fibra en las mismas: 7.17 - 7.71% (FC) y 14.56 - 15.20% (FDN) a un nivel constante de proteína (Tabla 1).

Ensayo en pollitos: Para esta prueba se formularon tres dietas con diferentes niveles de HIY, y una adicional sin HIY (Tabla 1). Sobre la base de la dieta sin HIY (Dieta A), el sorgo fue parcialmente sustituido en 15% (8.6% de la ración, Dieta B), 30% (16.4% de la ración, Dieta C) y 45% (23.7% de la

ración, dieta D). La composición proximal de las dietas se muestra en la parte inferior de esta tabla, notando que éstas son muy similares respecto a la cantidad de energía y a la cantidad de proteína, considerando entonces a las dietas como isocalóricas e isoproteínicas. Para lograr la condición de equivalencia de energía en las cuatro dietas, fue necesario adicionar aceite en proporción directa a los incrementos de HIY o en proporción inversa a la reducción del contenido de sorgo en las dietas B, C y D. Si en las dietas formuladas para este experimento el sorgo es reemplazado por maíz, el nivel máximo de inclusión de HIY hubiese sido menor de 45%, debido que las adiciones de aceite en raciones para aves no deben exceder de 5% y porque la HIY (2,454 kcal/Kg) contiene 28.2% menos de EM que el maíz o 24.6% menos que el sorgo (13).

TABLE 2
Digestibilidad in vitro de las dietas

Dieta	Digestibilidad	
	Absoluta	Respecto a caseína
	g/100g	
A	75,61	85,92
B	73,48	83,50
C	73,40	83,41
D	73,14	83,11
Caseína	88,00	100,00

Sustitución de sorgo por HIY: A-0% B-15%
C-30% y D-45%.

La inclusión de 23.7% de HIY (45% de HIY + 55% de sorgo) resultó en pérdida de ganancia en peso y en eficiencia alimentaria respecto a las otras dietas (Tabla 3), de lo cual se concluye que el límite de inclusión de HIY es de 16.4% sin modificar significativamente el comportamiento del crecimiento de este tipo de pollitos, ya que niveles superiores de HIY implican niveles no permitidos de fibra en las dietas, lo cual se refleja en un consumo inferior de alimento (Tabla 3). Por otro lado, después de cuatro semanas de recibir el alimento, dos aves de cada tratamiento fueron sacrificadas para estudiar la influencia del nivel de inclusión de HIY en las dietas sobre el peso de algunos órganos (Tabla 4). El hígado fue el único órgano en el cual se notó la influencia del nivel de HIY (nivel de fibra) ya que la relación peso de hígado: peso de ave incrementó proporcionalmente al incremento del nivel de HIY en las dietas. Estos datos referentes al hígado confirman la experiencia de otros investigadores (13, 15) en el sentido de que los animales monogástricos están limitados para degradar y asimilar materiales ricos en fibra.

TABLE 3
Comportamiento de pollitos alimentados con dietas con diferentes niveles de harina integral de yuca durante 28 días

Harina integral de yuca %	Ganancia de peso	Consumo de alimento	Eficiencia alimenticia
	g	g	g:kg
0	541.6 a	746.9 a	604.6 a
8.59 (15%)	433.2 a,b	737.9 a	587.1 a
16.43 (30%)	413.7 a,b	761.2 a*	543.5 a
23.74 (45%)	345.8 b	707.6 b	487.9 b

a,b: Medias en una columna con superíndices diferentes difieren significativamente ($P < 0.05$).

Los valores son medias de 3 grupos de 8 pollitos cada uno; el peso promedio inicial fue 34.5 g.

* Incluyeron un grupo de seis aves debido a la muerte de dos pollitos (electrocutados).

TABLE 4
Efecto del nivel de HIY en dietas para pollitos sobre el peso de algunos órganos después de 28 días

Nivel de HIY	Peso del ave ¹	PO x 100/PA ²			
		Bazo	Corazón	Hígado	Páncreas
	g/100 g	g/100 g			
	g				
0	570.5	0.12 a	0.68 b	2.61 c	0.36 d
8.6 (15)	458.4	0.10 a	0.73 b	2.80 c	0.44 d
16.4 (30)	475.5	0.11 a	0.66 b	2.84 c	0.34 d
23.7 (45)	422.3	0.11 a	0.76 b	2.90 c	0.34 d

1: Promedio de 2 aves por tratamiento.

2: PO: peso de órgano, promedio de 2 órganos; PA: peso ave.

a,b,c,d: Medias en cada columna con superíndices iguales no difieren significativamente ($p > 0.05$).

REFERENCIAS

1. Cuca GM. Avila E y Pró A. La alimentación de las aves de corral. Chapingo Edo. Méx. Centro de Enseñanza e Investigación en Ganadería. Colegio de Postgraduados, México. 1980.
2. Nesheim MC, Austin RE & Card LE. Poultry production. Philadelphia, USA. 12th ed. Lea & Febiger, 1979.
3. Oyenuga VA & Opeca LK. The value of cassava rations for pork and bacon production. W. AFR. J. Biol Chem 1957; 1:3.
4. Okezie BO. Performance of growing pigs on cassava meal as a basal feed. Proc Conf Seniro Tech Prof Staff, Min. of Agric (BIAFRA) 1968; 1:54.
5. Wylie D y Kinabo A. Harina de yuca o de maíz para pollos de

- asar y el efecto de la suplementación con metionina y sulfato en dietas basadas en yuca. *Producción Animal Tropical* 1980; 5:198.
6. Montaldo A. Whole plant utilization of cassava for animal feed. In *Cassava as animal feed* (Nestel, B., Graham M. Eds). IDRC. University of Guelph. 1977.
 7. Ross L & Enríquez FO. The nutritive value of cassava leaf meal. *Poultry Sci.* 1969; 48:846.
 8. Ravindran V, Kornegay ET & Cherry JA. Feeding values of cassava tubers and leaf meals. *Nutr Reports Intern* 1983; 28:189.
 9. Ballinas DJ. Elaboración de una harina integral de yuca y su evaluación nutricional en aves. México, DF. Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN. Dpto. Biotecnología. Tesis Maestría, 1992.
 10. Association of Official Analytical Chemists. *Official Methods of Analysis of the AOAC*. 14th ed. Washington DC. The Association, 1984.
 11. Van Soest PJ & RH Wine. Use of detergents in the analysis fibrous feeds. IV. Determination of plant cell-wall constituents. *J. Assoc Off Chem* 1967; 50:50.
 12. Van de Kamer JH & Van Ginkel L. Rapid determination of crude fiber in cereals. *Cereal Chem* 1952; 46:825.
 13. Avila GE. Alimentación de las aves. México DF. Ed. Universidad Nacional Autónoma de México, 1990.
 14. Reyes CP. *Bioestadística aplicada*. México DF. Ed. Trillas, 1987.
 15. NRC. National Research Council. *Nutrient Requirements of Poultry*. Washington DC 9th Rev. Ed. National Academy Press, 1994.

Recibido: 19-08-1996

Aceptado: 19-09-1997

Notas

Acerca del XI Congreso Latinoamericano de Nutrición "Dr. Abraham Horwitz" y XI Congreso Centroamericano de Nutricionistas y Dietistas

El XI Congreso Latinoamericano de Nutrición "Dr. Abraham Horwitz" y XI Congreso Centroamericano de Nutricionistas y Dietistas se llevó a cabo durante los días 9-15 de noviembre, en el Centro de Convenciones del Hotel Camino Real. Varios aspectos del desarrollo de las ciencias de nutrición y de políticas alimentarias se abordaron como ejes prioritarios para el desarrollo socio-económico de países en vías de desarrollo. Por lo que, el tema central del Congreso fue "Promoviendo la seguridad alimentaria y nutricional (SAN) en América Latina". Temas específicos que se revisaron incluyen la seguridad alimentaria y nutricional, la vigilancia y monitoreo; la educación alimentaria y nutricional; la formación de recursos humanos; la tecnología alimentaria; composición de alimentos; la nutrición en la niñez; la nutrición de la mujer, y micronutrientes. Las principales conferencias, simposios, debates y sesiones de trabajo, giraron alrededor de estos temas. El Congreso se inauguró el 10 de noviembre, contando con la participación de representantes de diferentes agencias de cooperación: el Director de la Organización Panamericana de la Salud-OPS/OMS, Dr. George A.O. Alleyne, La Dra. Marta Maurás, Directora UNICEF para América Latina y el Caribe y el Dr. Cecilio Morón, en representación del Dr. Severino de Melo Araujo, Director de FAO para América Latina y el Caribe, quienes dieron a conocer el papel que las agencias están llevando a cabo para promover la SAN. En el acto inaugural también participó la Dra. Bárbara Underwood, Presidente de la Unión Internacional de Ciencias de la Nutrición. Por su parte, representantes de instituciones del Sistema de Integración de Centro América-SICA compartieron con los asistentes los avances que desde sectores económicos, agricultura, educación y cultura, y salud se están teniendo en la iniciativa centroamericana de seguridad alimentaria y nutricional.

Un total de 18 conferencias principales fueron dictados por líderes prestigiosos en el campo de las ciencias nutricionales, quienes plantearon su preocupación por la aparición de enfermedades crónicas en adultos de países en desarrollo. Dos prestigiosos científicos de Boston, Massachusetts, EUA, el Profesor Walter Willett de la Escuela de Medicina y de la Escuela de Salud Pública de Harvard presentó una conferencia sobre la epidemiología de la nutrición de enfermedades crónicas no transmisibles; mientras que

el Profesor Irwin Rosenberg, decano de la Escuela de Nutrición y Políticas de la Universidad de Tufts, Director del Centro de Investigaciones Jean Mayer en Nutrición y del Envejecimiento del Departamento de Agricultura de Estados Unidos, presentó una conferencia sobre la biología de la homocisteína como un factor de riesgo para las enfermedades cardiovasculares. Además, Geoffrey Cannon del Fondo de Investigación Mundial en Cáncer (WCRF) dio a conocer los resultados recientes publicados en el Informe sobre Alimentos, Nutrición y Prevención del Cáncer. Este informe se complementó por un Simposio sobre el mismo tema patrocinado por el WCRF. El Dr. Mauro Valencia del Centro de Investigación Alimentación y Desarrollo (CIAD) de México abordó el tema de la obesidad y diabetes en relación a la genética y al ambiente, mientras que el Dr. Manuel Peña coordinó un Simposio sobre este tema, y el cual estuvo patrocinado por la OPS/OMS.

Mercedes Blanco de Venezuela dictó una conferencia sobre la evaluación nutricional del adolescente y coordinó un simposio sobre la nutrición durante la adolescencia. Rafael Pérez-Escamilla de EUA, presentó el estado actual de la lactancia, mientras que Juan Rivera de México habló sobre intervenciones nutricionales durante la niñez y Jesús Bulux de Guatemala trató el tema de micronutrientes, enfocando su presentación a las implicaciones de los contenidos de micronutrientes en alimentos versus su biodisponibilidad. F. Boucher de Perú habló acerca del desarrollo de las agroindustrias en la región latinoamericana. Dos conferencias se centraron en aspectos relativos a la seguridad alimentaria y nutricional, a cargo de Beatrice Rogers de EUA y Mireya Palmieri de Guatemala.

Se presentaron un total de 18 simposios y 18 debates. Entre los temas de debate: la rehidratación oral; opciones de mercado de trabajo para los profesionales de la rama nutricional; los alimentos y ventas callejeras, la administración de suplementos cinc y la morbilidad así como el papel de la investigación en nutrición para el Siglo XXI.

Las tardes se dedicaron a la presentación de investigaciones y de experiencias de participantes al congreso, provenientes de países de la región así como del Canadá, EUA y Europa. Se programaron más de 600 temas libres. Veinte temas libres compitieron por dos premios Kellogg's -uno de nivel profesional y otro de nivel de estudiante. Los ganadores fueron Licda. Diamela Carías y Dr. Benjamín Torún.

También se contempló un foro abierto de comunicación con la Unión Internacional de Ciencias de la Nutrición (IUNS),

IUNS del Instituto Nacional de Ojos.

Una actividad adicional realizada fue la relativa a dar homenaje a destacados profesionales. Entre estos se incluyó al Dr. Abraham Horwitz, así como a cuatro científicos que han contribuido enormemente al desarrollo de la investigación nutricional. Ellos fueron: Dr. Guillermo Arroyave; Dr. Ricardo Bressani; Dr. Nevin Scrimshaw y Dr. Manuel Amador, mientras que el nutricionista mexicano, Dr. Adolfo Chávez, recibió el Premio E. V. McCollum.

La Cía, Kellogg's patrocinó dos conferencias especiales, contando con la participación de dos profesionales sobresalientes, de prestigio internacional. Ellos son: Dr. José María Bengoa de Venezuela, quien habló acerca de la historia de la nutrición en la región y la Dra. Lindsay Allen de UC Davis, California sobre la nutrición y su función.

Información para los autores

Requisitos uniformes para preparar los manuscritos enviados a revistas biomédicas ¹

Comité Internacional de Directores de Revistas Médicas ²

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

RESUMEN DE LOS REQUISITOS

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

Cada componente del manuscrito empezará en página aparte,

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

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

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

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

PUBLICACION PREVIA Y DUPLICADA

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

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

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

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

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

Traducción: Dr. Gustavo A. Silva, traductor y redactor médico, miembro de la American Medical Writers Association, el Council of Biology Editors y la European Association of Science Editors. Dirección postal: 5313 King Charles Way, Bethesda, MD 20814, Estados Unidos de América.

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

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

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

1. Se informará cabalmente a los directores de las dos revistas involucradas; el director de la publicación secundaria tendrá en su poder una fotocopia, 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

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

PAGINA DEL TITULO

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

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

AUTORIA

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

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

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

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

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

RESUMEN Y PALABRAS CLAVE

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

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

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

TEXTO

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

Introducción

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

Métodos

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

Ética

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

Estadística

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

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

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

Resultados

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

Discusión

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

You CH, Lee KY, Chey RY, Menguy R. Electro-gastrographic study of patients with unexplained nausea, bloating and vomiting. *Gastroenterology* 1980 Aug;79(2):311-4.

Como opción, si una revista utiliza la paginación continua a lo largo de un volumen, podrán omitirse el mes y el número:

You CH, Lee KY, Chey RY, Menguy R. Electro-gastrographic study of patients with unexplained nausea, bloating and vomiting. *Gastroenterology* 1980;79:311-4.

Goate AM, Haynes AR, Owen MJ, Farrall M, James LA, Lai LY, et al. Predisposing locus for Alzheimer's disease on chromosome 21. *Lancet* 1989;1:352-5.

2. **Autor corporativo:**

The Royal Marsden Hospital Bone-marrow Trans-plantation Team. Failure of syngeneic bone-marrow graft without preconditioning in post-hepatitis marrow aplasia. *Lancet* 1977;2:742-4.

3. **No se indica el nombre del autor:**

Coffee drinking and cancer of the pancreas [editorial]. *BMJ* 1981;283:628.

4. **Artículo en idioma extranjero⁴:**

Massone L, Borghi S, Pestarino A, Piccini R, Gambini C. Localisations palmaires purpuriques de la dermatite herpétiforme. *Ann Dermatol Venerol* 1987;114:1545-7.

5. **Suplemento de un volumen:**

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

6. **Suplemento de un número:**

Gardos G, Cole JO, Haskell D, Marby D, Paine SS, Moore P. The natural history of tardive dyskinesia. *J Clin Psychopharmacol* 1988;8(4 Suppl):31S-37S.

7. **Parte de un volumen:**

Hanly C. Metaphysics and innateness: a psycho-analytic perspective. *Int J Psychoanal* 1988;69(Pt 3):389-99.

8. **Parte de un número:**

Edwards L, Meyskens F, Levine N. Effect of oral isotretinoin on dysplastic nevi. *J Am Acad Dermatol* 1989;20(2 Pt 1):257-60.

9. **Número sin volumen:**

Baumeister AA. Origins and control of stereotyped movements. *Monogr Am Assoc Ment Defic* 1978;(3):353-84.

10. **Sin número ni volumen:**

Danoek K. Skiing in and through the history of medicine. *Nord Medicinist 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.

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.).

13. **Artículo que contiene una retractación:**
Shishido A. Retraction notice: Effect of platinum compounds on murine lymphocyte mitogenesis [Retraction of Alsabti EA, Ghalib ON, Salem MH. In: *Jpn J Med Sci Biol* 1979;32:53-65]. *Jpn J Med Sci Biol* 1980;33:235-7.
14. **Artículo retirado por retractación:**
Alsabti EA, Ghalib ON, Salem MH. Effect of platinum compounds on murine lymphocyte mitogenesis [Retracted by Shishido A. In: *Jpn J Med Sci Biol* 1980;33:235-7]. *Jpn J Med Sci Biol* 1979;32:53-65.
15. **Artículo que contiene un comentario sobre otro trabajo:**
Piccoli A, Bossatti A. Early steroid therapy in IgA neuropathy: still an open question [comment]. *Nephron* 1989;51:289-91. Comment on: *Nephron* 1988;48:12-7.
16. **Artículo que ha sido comentado en otro trabajo:**
Kobayashi Y, Fujii K, Hiki Y, Tateno S, Kurokawa A, Kamiyama M. Steroid therapy in IgA nephropathy: a retrospective study in heavy proteinuric cases [see comments]. *Nephron* 1988;48:12-7. Comment in: *Nephron* 1989;51:289-91.
17. **Artículo sobre el que se ha publicado una fe de erratas:**
Schofield A. The CAGE questionnaire and psycho-logical health [published erratum appears in *Br J Addict* 1989;84:701]. *Br J Addict* 1988;83:761-4.

Libros y otras monografías

18. **Individuos como autores:**
Colson JH, Armour WJ. Sports injuries and their treatment. 2nd rev ed. London: S Paul, 1986.
19. **Directores o compiladores como autores:**
Diener HC, Wilkinson M, editors. Drug-induced headache. New York: Springer-Verlar, 1988.
20. **Organización como autor y editor:**
Virginia Law Foundation. The medical and legal implications of AIDS. Charlottesville: The Foundation, 1987.
21. **Capítulo de libro:**
Weinstein L, Swartz MN. Pathologic properties of invading microorganisms. In: Sodeman WA Jr, Sodeman WA, editors. *Pathologic physiology: mechanisms of disease*. Philadelphia: Saunders, 1974:457-72.
22. **Actas de conferencias:**
Vivian VL, editor. Child abuse and neglect: a medical community response. Proceedings of the First AMA National Conference on Child Abuse and Neglect; 1984 Mar 30-31; Chicago. Chicago: American Medical Association, 1985.
23. **Artículo presentado a una conferencia:**
Harley NH. Comparing radon daughter dosimetric and risk models. In: Gammage RB, Kaye SV, editors. *Indoor air and human health*. Proceeding of the Seventh Life Sciences Symposium; 1984 Oct 29-31; Knoxville (TN). Chelsea (MI): Lewis, 1985:69-78.
24. **Informe científico o técnico:**
Akutsu T. Total heart replacement device. Bethesda (MD): National Institutes of Health, National Heart and Lung Institute; 1974 Apr. Report No.: NIH-NHLI-69-2185-4.
25. **Tesis doctoral:**
Youssef NM. School adjustment of children with congenital heart disease [dissertation]. Pittsburgh (PA): Univ of Pittsburgh, 1988.
26. **Patente:**
Harred JF, Knight AR, McIntyre JS, inventors. Dow Chemical Company, assignee. Epoxidation process. US patent 3,654,317. 1972 Apr 4.

Otros trabajos publicados

27. **Artículo de periódico:**
Rensberger B, Specter B. CFCs may be destroyed by natural process. *The Washington Post* 1989 Aug 7;Sect A:2(col 5).
28. **Material audiovisual:**
AIDS epidemic the physician's role [videorecording]. Cleveland (OH): Academy of Medicine of Cleveland, 1987.
29. **Archivo de computadora:**
Renal system [computer program]. MS-DOS version. Edwardsville (KS): Medi-Sim, 1988.
30. **Documentos legales:**
Toxic Substances Control Act: Hearing on S776 Before the Subcomm. on the Environment of the Senate Comm. on Commerce, 94th Congr., 1st Sess. 343 (1975).
31. **Mapas:**
Scotland [topographic map]. Washington: National Geographic Society (US), 1981.
32. **Libro de la Biblia:**
Ruth 3:1-18. The Holy Bible. Authorised King James version. New York: Oxford Univ Press, 1972.
33. **Diccionarios y obras de consulta semejantes:**
Ectasia. Dorland's illustrated medical dictionary. 27th ed. Philadelphia: Saunders, 1988:527.
34. **Obras clásicas:**
The Winter's Tale: act 5, scene 1, lines 13-16. The complete works of William Shakespeare. Londond: Rex, 1973.

Trabajos inéditos

35. **En prensa:**
Lillywhite HB, Donald JA. Pulmonary blood flow regulation in an aquatic snake. *Science*. In press.

CUADROS

Mecanografía o imprima cada cuadro a doble espacio y en hoja aparte. No presente los cuadros en forma de impresiones fotográficas. Numérelos consecutivamente siguiendo el orden en que se citan por primera vez en el texto, y asigne un título breve a cada uno. Cada columna llevará un encabezamiento corto o abreviado. Las explicaciones irán como notas al pie y no en el encabezamiento. En las notas al pie se explicarán todas las abreviaturas no usuales empleadas en cada cuadro. Como llamadas para las notas al pie, utilícese los símbolos siguientes en la secuencia que se indica: *

*, †, ‡, §, ||, ¶, **, ††, ‡‡,

Identifique las medidas estadísticas de variación, tales como

la desviación estándar y el error estándar de la media.

No trace líneas horizontales ni verticales en el interior de los cuadros.

Cerciórese de que cada cuadro sea citado en el texto.

Si incluye datos publicados o inéditos provenientes de otra fuente, obtenga la autorización necesaria para reproducirlos y conceda el reconocimiento cabal que corresponde.

Incluir un número excesivo de cuadros en relación con la extensión del texto puede ocasionar dificultades al confeccionar las páginas. Examine varios números recientes de la revista a la que planea presentar el artículo y calcule cuántos cuadros pueden incluirse por cada millar de palabras de texto.

Al aceptar un artículo, el director podrá recomendar que los cuadros suplementarios que contienen datos de respaldo importantes, pero que son muy extensos para ser publicados, queden depositados en un servicio de archivo, como el National Auxiliary Publications Service (NASP) [Servicio Nacional de Publicaciones Auxiliares] en los Estados Unidos, o que sean proporcionados por los autores a quien lo solicite. En tal caso, se agregará en el texto la nota informativa necesaria. Sea como fuere, dichos cuadros se presentarán junto con el artículo.

ILUSTRACIONES (FIGURAS)

Envíe los juegos completos de figuras en el número requerido por la revista. Las figuras estarán dibujadas y fotografiadas en forma profesional; no se aceptarán los letreros trazados a mano o con máquina de escribir. En lugar de los dibujos, radiografías y otros materiales de ilustración originales, envíe impresiones fotográficas en blanco y negro, bien contrastadas, en papel satinado y que midan $127 \infty 173$ mm, sin exceder de $203 \infty 254$ mm. Las letras, números y símbolos serán claros y uniformes en todas las ilustraciones; tendrán, además, un tamaño suficiente para que sigan siendo legibles incluso después de la reducción necesaria para publicarlas. Los títulos y las explicaciones detalladas se incluirán en los pies o epígrafes, no sobre las propias ilustraciones.

Al reverso de cada figura pegue una etiqueta de papel que lleve anotados el número de la figura, el nombre del autor y cuál es la parte superior de la misma. No escriba directamente sobre el dorso de las figuras ni las sujete con broches para papel, pues se rompen y quedan marcadas. Las figuras no se doblarán ni se montarán sobre el cartón.

Las fotomicrografías incluirán en sí mismas un indicador de la escala. Los símbolos, flechas y letras usados en éstas contrastarán claramente con el fondo.

Si se usan fotografías de personas, éstas no deberán ser identificables; de lo contrario, habrá que anexar un permiso por escrito para poder utilizarlas.

Las figuras se numerarán en forma consecutiva de acuerdo con su primera mención en el texto. Si la figura ya fue publicada, se reconocerá la fuente original y se presentará la autorización por escrito que el titular de los derechos de autor concede para reproducirla. Este permiso es necesario, independientemente de quién sea el autor o la editorial; la única salvedad son los documentos considerados como de dominio público.

En el caso de las ilustraciones en color, averigüe si la revista necesita negativos, transparencias o impresiones fotográficas. La inclusión de un diagrama en el que se indique la parte de la fotografía que debe reproducirse puede resultar útil a la redacción. Algunas revistas publican ilustraciones en color únicamente si el autor paga el costo extra.

Pies o epígrafe de las ilustraciones

Los pies o epígrafes de las ilustraciones se mecanografiarán o imprimirán a doble espacio, comenzando en hoja aparte e identificándolos con los números arábigos correspondientes. Cuando se utilicen símbolos, flechas, números o letras para referirse a ciertas partes de las ilustraciones, será preciso identificar y aclarar el significado de cada uno en el pie o epígrafe. En las fotomicrografías habrá que explicar la escala y especificar el método de tinción.

UNIDADES DE MEDIDA

Las medidas de longitud, talla, peso y volumen se expresarán en unidades del sistema métrico decimal (metro, kilogramo, litro) o sus múltiplos y submúltiplos.

Las temperaturas se consignarán en grados Celsius. Los valores de presión arterial se indicarán en milímetros de mercurio.

Todos los valores hemáticos y de química clínica se presentarán en unidades del sistema métrico decimal y de acuerdo con el Sistema Internacional de Unidades (SI). La redacción de la revista podrá solicitar que, antes de publicar el artículo, los autores agreguen unidades alternativas o distintas de las del SI.

ABREVIATURAS Y SIMBOLOS

Utilice únicamente abreviaturas ordinarias. Evite las abreviaturas en el título y el resumen. Cuando se emplee por primera vez una abreviatura, ésta irá precedida del término completo, salvo si se trata de una unidad de medida común.

PRESENTACION DEL MANUSCRITO A LA REVISTA

Envíe por correo el número requerido de copias del manuscrito en un sobre de papel resistente; si es necesario, proteja las copias y las figuras metiéndolas entre dos hojas de cartón para evitar que las fotografías se doblen durante la manipulación postal. Meta las fotografías y transparencias en su propio sobre de papel resistente.

Los manuscritos irán acompañados de una carta de presentación que proporcione: a) información acerca de la publicación previa o duplicada, la presentación del manuscrito a otra revista o la publicación de cualquier parte del trabajo, según lo expresado en líneas arriba; b) una manifestación de las relaciones financieras o de otro tipo que pudieran desembocar en un conflicto de intereses; c) una declaración de que el manuscrito ha sido leído y aprobado por todos los autores, que se ha cumplido con los requisitos de la autoría expuestos anteriormente en el presente documento y, más aún, que cada uno de los autores cree que el manuscrito representa un trabajo honrado; y d) el nombre, la dirección y el número telefónico del autor corresponsal, quien se encargará de comunicarse con los demás autores en lo concerniente a las revisiones y a la aprobación final de las pruebas de imprenta. La carta incluirá cualquier información suplementaria que pueda resultar útil para el director, tal como el tipo de artículo que el manuscrito representa para esa revista en particular y si el autor (o los autores) estaría(n) dispuesto(s) a sufragar el costo de reproducir las ilustraciones en color.

El manuscrito se acompañará de copias de los permisos concedidos para reproducir material ya publicado, para usar ilustraciones o revelar información personal delicada sobre individuos que puedan ser identificados, o para nombrar a ciertas personas por su colaboración.

MANUSCRITOS EN DISQUETE

Tratándose de artículos que están cercanos a la aceptación final, algunas revistas piden que los autores proporcionen los manuscritos en forma electrónica (en disquetes) y pueden aceptar una variedad de formatos de procesamiento de textos o archivos (también llamados "ficheros") de texto (ASCII).

Al presentar disquetes, los autores deben:

1. Cerciorarse de incluir un impreso de la versión del manuscrito en disquete.
2. Incluir en el disquete solamente la versión más reciente del manuscrito.
3. Poner muy claramente el nombre del archivo.
4. Rotular el disquete con el formato y el nombre del archivo.
5. Facilitar información sobre el software y el hardware empleados.

En las instrucciones de la revista dirigidas a los autores, éstos deben consultar cuáles son los formatos que se aceptan, las convenciones para denominar los archivos y disquetes, el número de copias que han de enviarse, y otros detalles del caso.

Revistas participantes

Las revistas que han notificado al Comité Internacional de Directores de Revistas Médicas su disposición a que se les envíen manuscritos preparados de conformidad con las versiones anteriores de los Requisitos uniformes del Comité mencionan este hecho en sus instrucciones a los autores. La lista completa de ellas puede solicitarse a la Oficina de la Secretaría en *Annals of Internal Medicine*.

Indice General del Volumen 47 - 1997

ARTICULOS GENERALES

Importancia nutricional del selenio.

Josefina Ortuño, Gaspar Ros, María Jesús Periago, Carmen Martínez, Ginés López y Joaquín Rodrigo 6

Actividad antitumoral de compuestos naturales: Lectinas y azafrán.

Fikrat I. Abdullaev y Elvira González de Mejía 195

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

Ginés López, Gaspar Ros, Francisco Rincón, María Jesús Periago, Carmen Martínez y Josefina Ortuño 203

Revisión: Extracción microbiológica y enzimática de pectina.

J.C. Contreras-Esquivel, R.A. Hours, C.N. Aguilar, M.L. Reyes-Vega y J. Romero 208

Programas de nutrición escolar en América Latina. Un análisis.

Hugo Amigo 299

TRABAJOS DE INVESTIGACION

Nutrición Humana.

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

Ana Itriago, Nereida Carrión, Alberto Fernández, Myriam Puig y Elizabeth Dini 14

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

Daisy Amaya de C., Roberto Urrieta, Negda M. Gil, Nelly C. Molano, Ida Medrano y Haydée V. Castejón 23

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

Eduardo Atalah Samur y Cecilia Castillo Lancelloti 29

Efecto de un programa de refuerzo alimentario sobre el crecimiento en talla de una población infantil.

Juliana Kain y Fernando Pizarro 101

Crecimiento antropométrico de la población escolar en zonas rurales y suburbanas de Durango, México.

Jorge Alberto Tena-Flores y A. Roberto Frisancho 105

Índice cintura/cadera: relación con la masa corporal y con el porcentaje de grasa corporal total.

Yolanda Hernández de Valera y Rosa A. Hernández H 315

Evaluación del estado de zinc en ancianos institucionalizados.

Lesbia Meertens de R., Liseti Solano y Evelyn Peña 311

Estado nutricional de gestantes adolescentes en São Paulo, Brasil.

Elizabeth Fujimori, Ida María Vianna de Oliveira, Luz Marina Núñez de Cassana y Sophia Cornbluth Szarfarc 305

Nutrición Animal

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

Gladis Coral Hinojosa, Alberto Huberman W., Guadalupe de la Lanza y José Monroy Ruiz 237

Uso de una multimistura como suplementação alimentar: estudo em ratos.

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 242

Elaboración de una harina integral de yuca (<i>N. esculenta Crantz</i>) para alimentación de pollitos de engorde. Parte I. Caracterización químico-nutricional de hojas, raíces y harina integral de yuca. Julio Ballinas Díaz, Carlos Cruz Mondragón, Rutilo Castellanos Molina y Alfredo Larios Saldaña	382
Elaboración de una harina integral de yuca (<i>N. esculenta Crantz</i>) para alimentación de pollitos de engorde. Parte II. Evaluación de una harina integral de yuca en pollitos de engorde. Julio Ballinas Díaz, Alfredo Larios Saldaña, Carlos Cruz Mondragón, Rutilo Castellanos Molina y Ernesto Avila González	387

Bioquímica Nutricional

Effect of different dietary levels of vitamin E on lipid peroxidation in rats. Helio Vannucchi, Alceu Afonso Jordao Junior, Antonio Carlos G. Iglesias, Márcia Varella Morandi y Paula García Chiarello	34
Adiposidad y patrón de distribución en un grupo de preescolares de estratos socioeconómicos bajos de Caracas. Betty M. Pérez, Maura Vásquez, Maritza Landaeta-Jiménez, Guillermo Ramírez y Thais Ledezma	38
Variaciones temporales en la composición y aporte de macronutrientes y minerales en leches maternas de mujeres venezolanas. Diamela Carias, Gladys Velásquez, Anna M. Cioccia, Domingo Piñero, Haydee Inciarte y Patricio Hevia	110
Serum level of Zn, Cu and Fe in healthy schoolchildren residing in Mérida, Venezuela. Oscar M. Alarcón, José Reinosa Fuller, Tania M. Silva, Coromoto Angarita, Elfida Terún, Maritza Navas, Pedro Solano and Milena Agostinelli	118
Efeito da pectina e celulose nos níveis de somatomedina C e síntese de proteoglicano no músculo e cartilagem de ratos. Julio Tirapegui, Gloria Silva, Kristine Bruscatto, Ana Paula Silvatti, Solange Tomoe Osuka.....	323
Reliability of the Western Ligand Blot method for the simultaneous relative estimations of serum insulin-like Growth Factor binding proteins (IGFBPs). María Teresa Ochoa, Karin Flölenhag, Kjell Malmjöf, Myriam Sánchez-Gómez y Anna Skottner.....	331
Duración de la vida en ratas desnutridas, utilizando dieta básica del nordeste brasileño. Eunice Salzano Lago, Naíde Regueira Teodósio, Débora Catarine N. de Pontes Pessoa y José Eulálio Cabral Filho.....	338

Bacteriología de Alimentos

Prevalencia de <i>Aeromonas spp</i> en agua de superficie. Pilar Hernández S. y Raquel Rodríguez de García.....	44
Prevalencia de <i>Plesiomonas shigelloides</i> en agua de superficie. Pilar Hernández S. y Raquel Rodríguez de García.....	47
Efecto de microondas sobre <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Salmonella spp.</i> inoculados en carne molida congelada. María Laura Arias, Manuel Jiménez y Florencia Antillón.....	123

Ciencia de Alimentos

Characterization of yellow rice and development of instant flours by hydrothermal process. F. Martínez-Bustos, L.L. Delgado, M.G. Victorio and S.E. Morales.....	50
Evaluation of different solvent systems for the extraction and fractionation of oleoresins from guajillo peppers. Carlos Abel Amaya Guerra, Sergio Román Othón Serna Saldivar, Enrique Cárdenas and Juan Antonio Nevero Muñoz	127
Tannin elimination and improvement of the digestibility of protein sorghum grains. R.A. Agudelo, G. Fliedel and O.M. Alarcón	131

Cambios en algunos factores antifisiológicos y nutritivos de las semillas de sorgo (<i>Sorghum bicolor</i> (L.) Moench) durante la germinación.	
Raúl Alvarez Venegas, Rutilo Castellanos Molina, Fernando Martínez Bustos y Carlos Cruz Mondragón	136
Calidad de pastas suplementadas con salvado de arroz.	
E. Sangronis y M.A. Rebolledo	141
Calidad de cocción de pastas largas suplementadas con salvado de arroz.	
Sangronis E., Cafiero J. y Mosqueda M.	146
Efecto de la nixtamalización del maíz sobre el contenido de ácido fitico, calcio y hierro total y disponible.	
A.L. Urizar Hernández y R. Bressani.....	217
Comportamiento microbiano y obstáculos en alimentos venezolanos de humedad intermedia.	
L. Elguezabal, M. Daly, P. Navarro y M.E. Jreige.....	224
Envejecimiento del pan. Efecto combinado de α-amilasa bacteriana y emulsificante en la textura y en las características amilográficas de la miga.	
María Victoria Grossmann y Carmen Benedito de Barber.....	229
Características químicas y nutricionales del grano de cinco genotipos de <i>Canavalia ensiformis</i>.	
Alejandra O. Ramírez M. y Ligia Ortiz de Bertorelli	234
Efecto de adición de sal, tipo de corte y temperatura inicial de cocción sobre el contenido de proteínas y lípidos en caldos de carne. I. Carne de vacuno.	
Zaida Gotera-Prado, Jorge B. Quintero, Nelson Huerta-Leidenz y Zaida Prado-Gotera	362
Germinação de soja BR-13 e Paraná: efeito sobre os constituintes minerais.	
Mara Lucia Luiz Ribeiro, Elza Iouko Ida y Maria Cristina Neves de Oliveira	352
Propiedades funcionales de la proteína de cují (<i>Prosopis juliflora</i>).	
Ingrid Holmquist-Donquis y Greywer Ruiz de Rey.....	343
Concentrado proteico de <i>Amaranthus mantegazzianus</i>. Caracterización fisico-químico-biológica.	
Norma de Luquez, Silvia Fernández, Mirta L. de Arellano y Sara I. de Mucciarelli	359

Tecnología de Alimentos

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

Blanca D. Hernández Ramírez y Maritza J. Guerra Modernell	57
Effect of calcium addition and acidification on the quality characteristics of canned okra (<i>Hibiscus esculentus</i> L).	
J.N. Noriega, P.R. Cantarelli, C.R. Gallo, I.A.M. Moreno, F.C.A.U. Matsuura y M.A. Tiba	62
Effects of temperature, moisture and residence time in the properties of full fat soybean flour produced in a twin extruder.	
S.O. Serna-Saldivar and L.C. Cabral	66
Desarrollo de una pasta para sopa diseñada de acuerdo a los gustos y recomendaciones nutricias para los ancianos.	
Josefina Morales de León, María del Pilar Mercado Godinez y Patricia Cecin Salomón	152
Vida de anaquel y evaluación sensorial en tortillas de maíz elaboradas con conservadores y mejoradores.	
José Juan Ordaz Ortiz y Ma. Gricelda Vázquez Carrillo	372
Evaluación de la calidad mixtamalera-tortillera de mazclas maíz-frijol endurecido (<i>Zea mays</i> - <i>Phaseolus vulgaris</i>).	
C. García-Osorio y M.G. Vázquez-Carrillo	377
Pontos críticos de controle no fluxograma de beneficiamento do leite pasteurizado.	
Ana Catarina de Souza Lopes & T�nia Lúcia Montenegro Stamford	367

Educación Nutricional

Un test para medir el nivel de conocimientos alimentarios y nutricionales al inicio de la Educación Básica.

Daniza Ivanovic Marincovich, Carmen Gloria Castro Gómez y Rodolfo Ivanovic Marincovich	157
--	-----

Hábitos preferenciales de los consumidores de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) en México.

Javier Z. Castellanos, Horacio Guzmán Maldonado, Alicia Jiménez, Carlos Mejía, José de Jesús Muñoz Ramos, Jorge A. Acosta Gallegos, Gabriela Hoyos, Ernesto López Salinas, Diego González Eguiarte, Rafael Salinas Pérez, Julieta González Acuña, Jesús A. Muñoz Villalobos, Pablo Fernández Hernández y Benito Cáceres 163

Conocimientos alimentarios y nutricionales de madres de escolares de educación básica y media de diferentes niveles socioeconómicos.

Daniza Ivanovic M., Carmen Gloria Castro G. y Rodolfo Ivanovic M .. 248

Guías de alimentación y nutrición. Una propuesta didáctica.

Teresa Shamah-Levy, Claudia Vásquez-Resenos, Leticia Cervantes-Turrubiates y Adolfo Chávez-Villasana .. 256

Toxicología de Alimentos.**Occurrence of *Aspergillus flavus* strains and aflatoxins in corn from Santa Fe, Argentina.**

Marcelo C. Nepote, Eduardo Piontelli L. y Adriana Saubois 262

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

Jesús Vergilio Visentainer, Otávio Attie Vieira, Makoto Matsushita y Nilson Evelázio de Souza 70

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

Airton Delfino Andrade, Jesús Vergilio Visentainer, Makoto Matsushita y Nilson Evelázio de Souza 73

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

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

Contenido de colesterol en carne de pollo y sus productos manufacturados.

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

The starch and total sugar content of Mexican fruit and vegetables.

Claudia Sánchez Castillo, Peter J.S. Dewey, Shirley Finnie, María de Lourdes Solano and W. Philip T. James 168

Perfil de ácidos grasos en salchichas elaboradas en Venezuela.

Consuelo Araujo de Vizcarrondo y Eduardo Martín..... 173

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

V.R. Rozycki, C.M. Baigorria, M.R. Freyre, C.M. Bernard, M.S. Zannier, M. Charpentier..... 265

Composición mineral de la leche del Estado Mérida, Venezuela.

María D. Sánchez y Luis A. Boscán 271

Composición de ácidos grasos saturados e insaturados en alimentos de consumo frecuente en Argentina.

Alicia Navarro, Sonia E. Muñoz, María J. Lantieri, Eugenia A. Fabro y Aldo R. Eynard 276

Colesterol em carnes bovinas, suínas, frangos e derivados de carnes comercializados em Maringá, Paraná, Brasil.

André Rowe, Solange Aparecida Bertoni, Paulo Luiz Pereira, Makoto Matsushita y Nilson Evelázio de Souza 282

NOTAS 85, 177, 258, 391

NUEVOS LIBROS 179

INFORMACION PARA LOS AUTORES 181, 286, 393

Indice por Autores del Volumen 47 - 1997

A

Abdullaev, Fikrat I. Actividad antitumoral de compuestos naturales: lectinas y azafrán	195
Acosta Gallegos, Jorge A. Véase Castellanos, Javier Z	163
Agostinelli, Milena. Véase Alarcón, Oscar	118
Agudelo, R.A. Tannin elimination and improvement of the digestibility of protein sorghum grains	131
Aguilar, C.N. Véase Contreras-Esquivel, J.C.....	208
Alarcón, Oscar M. Serum level of Zn, Cu and Fe in healthy schoolchildren residing in Mérida, Venezuela	118
Alarcón, Oscar M. Véase Agudelo, R.A.....	131
Alvarez Venegas, Raúl. Cambios en algunos factores antifisiológicos y nutritivos de las semillas de sorgo (<i>Sorghum bicolor (L.) Moench</i>) durante la germinación	136
Amaya de C., Daisy. Valores de zinc plasmático en una población infantil marginal de Maracaibo, Venezuela.....	23
Amaya Guerra, Carlos Abel. Evaluation of different solvent systems for the extraction and fractionation of oleoresins from guajillo peppers	127
Amigo, Hugo. Programas de nutrición escolar en América Latina. Un análisis	299
Andrade, Airton Delfino. Omega -3 fatty acids in baked freshwater fish from south of Brazil.....	73
Angarita, Coromoto. Véase Alarcón, Oscar M.....	118
Antillón, Florencia. Véase Arias, María Laura.....	123
Araujo de Vizcarrondo, Consuelo. Perfil de ácidos grasos en salchichas elaboradas en Venezuela.....	173
Araujo de Vizcarrondo, Consuelo. Véase Rincón, Alicia Mariela.....	81
Arellano, Mirta L de. Véase Luquez, Norma de.....	359
Arias, María Laura. Efecto de microondas sobre <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Salmonella spp.</i> inoculados en carne molida congelada.....	123
Arruda Camara e Siqueira Campos, Floribela de. Véase Martins Bion, Francisca	242
Atalah Samur, Eduardo. Crecimiento del menor de un año con lactancia materna exclusiva en relación a la referencia OMS 1994	29
Attie Vieira, Otavio. Véase Visentainer, Jesuí Vergílio.....	70
Avila González, Ernesto. Véase Ballinas Díaz, Julio.....	387

B

Baigorria, C.M. Véase Rozycki, V.R.....	265
Ballinas Díaz, Julio. Elaboración de una harina integral de yuca (<i>N. esculenta Crantz</i>) para alimentación de pollitos de engorde. Parte I. Caracterización químico-nutricional de hojas, raíces y harina integral de yuca	382
Ballinas Díaz, Julio. Elaboración de una harina integral de yuca (<i>N. esculenta Crantz</i>) para alimentación de pollitos de engorde. Parte II. Evaluación de una harina integral de yuca en pollitos de engorde	387
Basualdo, Isabel. Véase Vera García, Rafael.....	77
Benedito de Barber, Carmen. Véase Grossmann, María Victoria	229
Bernard, C.M. Véase Rozycki, V.R.....	265
Bertoni, Solange Aparecida. Véase Rowe, André.....	282
Boscán, Luis A. Véase Sánchez, María D.....	271
Bressani, R. Véase Urizar Hernández, A.L.....	217

C

Caballero, Silvia. Véase Vera García, Rafael.....	77
Cabral Filho, José Eulálio. Véase Salzano Lago, Eunice.....	338
Cabral, L.C. Véase Serna Saldivar, S.O.....	66
Cáceres, Benito. Véase Castellanos Javier Z.....	163
Cafiero, J. Véase Sangronis E.....	146
Cantarelli, P.R. Véase Nogucira, J.N.....	62
Cárdenas, Enrique. Véase Amaya Guerra, Carlos Abel.....	127
Carias, Diamela. Variaciones temporales en la composición y aporte de macronutrientes y minerales en leches maternas de mujeres venezolanas.....	110
Carrillo de Padilla, Fanny. Véase Rincón, Alicia Mariela.....	81
Carrión, Nereida. Véase Itriago, Ana.....	14
Castejón, Haydée V. Véase Amaya de C., Deisy.....	23
Castellanos, Javier Z. Hábitos preferenciales de los consumidores de frijol común (<i>Phaseolus vulgaris L.</i>) en México.....	163
Castellanos Molina, Rutilo. Véase Ballinas Díaz, Julio.....	382
Castellanos Molina, Rutilo. Véase Ballinas Díaz, Julio.....	387
Castellanos Molina, Rutilo. Véase Alvarez Venegas, Raúl.....	136
Castillo Lancelloti, Cecilia. Véase Atalah Samur, Eduardo.....	29
Castro Gómez, Carmen Gloria. Véase Ivanovic Marincovich, Daniza	157
Castro Gómez, Carmen Gloria. Véase Ivanovic Marincovich, Daniza	248
Cecin Salomón, Patricia. Véase Morales de León, Josefina	152
Charpentier, M. Véase Rozycki, V.R.	265
Chávez-Villasana, Adolfo. Véase Shamah-Levy, Teresa	256
Cervantes-Turribiates, Leticia. Véase Shamah-Levy, Teresa	256
Cioccia, Anna M. Véase Carias, Diamela	110
Contreras-Esquivel, J.C. Revisión: Extracción microbiológica y enzimática de pectina	208
Cornbluth Szarfarc, Sophia. Véase Fujimori, Elizabeth	305
Cruz Mondragón, Carlos. Véase Alvarez Venegas, Raúl.....	136
Cruz Mondragón, Carlos. Véase Ballinas Díaz, Julio	382
Cruz Mondragón, Carlos. Véase Ballinas Díaz, Julio.....	387

D

Daly, M. Véase Elguezabal, L.....	224
De Arruda Camara e Siqueira Campos, Florisbela. Véase Martins Bion, Francisca	242
Delgado, LL. Véase Martínez Bustos, F.....	50
De Pontes Pessoa, Debora Catarine N. Véase Salzano Lago, Eunice.....	338
De Souza Lopes, Ana Catarina. Pontos críticos de controle no fluxograma de beneficiamento de leite pasteurizado.....	367
De Souza, Nilson Evalázio. Véase Andrade, Airton Delfino.....	73
De Souza, Nilson Evalázio. Véase Rowe, André.....	282
De Souza, Nilson Evalázio. Véase Visentainer, Jesús Vergílio.....	70
Dewey, Peter J.S. Véase Sánchez-Castillo, Claudia P.....	168
Dini, Elizabeth. Véase Itriago, Ana.....	14

E

Elguezabal, L. Comportamiento microbiano y obstáculos en alimentos venezolanos de humedad intermedia....	224
Eynard, Aldo R. Véase Navarro, Alicia	276

F

Fabro, Eugenia A. Véase Navarro, Alicia.....	276
Fernández, Alberto. Véase Itriago, Ana.....	14
Fernández Hernández, Pablo. Véase Castellanos Javier Z.	163
Fernández, Silvia. Véase Luquez, Norma de.....	359
Finnie, Shirley. Véase Sánchez-Castillo, Claudia P.....	168
Fliedel, G. Véase Agudelo, R.A.....	131
Flöenhag, Karin. Véase Ochoa, María Teresa.....	331
Freyre, M.R. Véase Rozycki, V.R.....	265
Frisancho, A. Roberto. Véase Tena-Flores, Jorge Alberto.....	105
Fujimori, Elizabeth. Estado nutricional de gestantes adolescentes en São Paulo, Brasil.....	305

G

Gallo, C.R. Véase Nogueira, J.N.....	62
García Chiarello, Paola. Véase Vanucchi Helio.....	34
García-Osorio, C. Nixtamalización de frijol endurecido (<i>Phaseolus vulgaris L.</i>) para elaboración de tortillas, mediante mezclas frijol-maíz.....	377
Gil, Negda M. Véase Amaya de C., Daisy.....	23
González Acuña, Julieta. Véase Castellanos Javier Z.....	163
González Eguiarte, Diego. Véase Castellanos Javier Z.....	163
González de Mejía, Elvira. Véase Abdullaev, Frikat Y.....	195
Gonçalves Lapa, María Auxiliadora. Véase Martins Bion, Francisca	242
Gotera-Prado, Zaida. Efecto de adición de sal, tipo de corte y temperatura inicial de cocción sobre el contenido de proteínas y lípidos en caldos de carne. I. Carne de vacuno	362
Grossmann, María Victoria. Envejecimiento del pan. Efecto combinado de α -amilasa bacteriana y emulsificante en la textura y en las características amilográficas de la miga.....	229
Guerra Modernell, Maritza J. Véase Hernández Ramírez, Blanca D.....	57
Guzmán Maldonado, Horacio. Véase Castellanos Javier Z.....	163

H

Herebia, Mercedes de. Véase Vera García Rafael	77
Hernández H., Rosa A. Véase Hernández de Valera, Yolanda.....	315
Hernández Ramírez, Blanca D. Desarrollo y evaluación de una fórmula para niños con diarrea a base de auyama, arroz, pollo y aceites vegetales.....	57
Hernández S., Pilar. Prevalencia de <i>Aeromonas spp</i> en agua de superficie.....	44
Hernández S., Pilar. Prevalencia de <i>Plesiomonas shigelloides</i> en agua de superficie.....	47
Hernández de Valera, Yolanda. Índice cintura/cadera: relación con la masa corporal y con el porcentaje de grasa corporal total	315
Hevia, Patricio. Véase Carias, Diamela.....	110
Hinostroza, Gladis Coral. Pigmentation of the rainbow trout (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) with oil-extracted astaxanthin from the langostilla (<i>Pleuroncodes planipes</i>)	237
Holmquist-Donquis, Ingrid. Propiedades funcionales de la proteína decují (<i>Prosopis juliflora</i>).....	343
Hours, R.A. Véase Contreras-Esquivel, J.C.....	208
Hoyos, Gabriela. Véase Castellanos Javier Z.....	163
Huberman W., Alberto. Véase Hinostroza, Gladis Coral	237
Huerta-Leidenz, Nelsón. Véase Gotera-Padrón, Zaida.....	362

I

Iglesias, Antonio Carlos. Véase Vannucchi, Helio.....	34
--	----

Inciarte, Haydee. Véase Carias, Diamela.....	110
Iouko Ida, Elza. Véase Luiz Ribeiro, Mara Lucia.....	352
Itriago, Ana. Contenido de zinc, cobre, hierro, calcio, fósforo y magnesio en los primeros días de lactación.....	14
Ivanovic Marincovich, Daniza. Un test para medir el nivel de conocimientos alimentarios y nutricionales al inicio de la Educación Básica.....	157
Ivanovic Marincovich, Daniza. Conocimientos alimentarios y nutricionales de madres de escolares de educación básica y media de diferentes niveles socioeconómicos	248
Ivanovic Marincovich, Rodolfo. Véase Ivanovic Marincovich, Daniza.....	157
Ivanovic Marincovich, Rodolfo. Véase Ivanovic Marincovich, Daniza.....	248

J

James, W. Philip T. Véase Sánchez-Castillo, Claudia P.....	168
Jiménez, Alicia. Véase Castellanos Javier Z.....	163
Jiménez, Manuel. Véase Arias, María Laura.....	123
Jordao Junior, Alceu Afonso. Véase Vannucchi, Helio.....	34
Jreige, M.E. Véase Elguezabal, L.....	224

K

Kain, Juliana. Efecto de un programa de refuerzo alimentario sobre el crecimiento en talla de una población infantil.....	101
--	-----

L

Landaeta-Jiménez, Maritza. Véase Pérez, Betty M.....	38
Lantieri, María J. Véase Navarro, Alicia.....	276
Lanza, Guadalupe de la. Véase Hinostroza, Gladis Coral.....	237
Larios Saldaña, Alfredo. Véase Ballinas Díaz, Julio.....	382
Larios Saldaña, Alfredo. Véase Ballinas Díaz, Julio.....	387
Ledezma, Thais. Véase Pérez, Betty M.....	38
Limongi Lopes, Silvia María. Véase Martins Bion, Francisca.....	242
López, Ginés. Propiedades funcionales de la fibra dietética. Mecanismos de acción en el tracto gastrointestinal	203
López, Ginés. Véase Ortuño, Josefina.....	6
López Salinas, Ernesto. Véase Castellanos Javier Z.....	163
Luiz Ribeiro, Mara Lucia. Germinação de soja BR-13 e paraná: efeito sobre os constituintes minerais.....	352
Luquez, Norma de. Concentrado proteico de <i>Anaranthus mantegazzianus</i> . Caracterización físico-químico-biológica.....	359

M

Malmjöf, Kjell. Véase Ochoa, María Teresa.....	331
Marinho Antunes, Norma Lucia. Véase Martins Bion, Francisca.....	242
Martín, Eduardo. Véase Rincón, Alicia Mariela.....	81
Martín, Eduardo. Véase Araujo de Vizcarrondo, Consuelo.....	173
Martínez Bustos, Fernando. Characterization of yellow rice and development of instant flours by hydrothermal process.....	50
Martínez Bustós, Fernando. Véase Alvarez Venegas, Raúl.....	136
Martínez, Carmen. Véase López, Ginés.....	203
Martínez, Carmen. Véase Ortuño, Josefina.....	6
Martins Bion, Francisca. Uso de uma multimistura como suplementação alimentar: estudo em ratos.....	242
Matsushita, Makoto. Véase Andrade, Airto Delfino.....	73
Matsushita, Makoto. Véase Rowe, André.....	282
Matsushita, Makoto. Véase Visentainer, Jesui Vergilio.....	70

Matsuura, F.C.A.U. Véase Nogueira, J.N.....	62
Medrano, Ida. Véase Amaya de C., Daisy.....	23
Meertens de R., Lesbia. Evaluación del estado de zinc en ancianos institucionalizados.....	311
Mejía, Carlos. Véase Castellanos Javier Z.....	163
Mercado Godíñez, María del Pilar. Véase Morales de León, Josefina.....	152
Molano, Nelly C. Véase Amaya de C., Daisy.....	23
Monroy-Ruiz, José. Véase Hinojosa, Gladis Coral.....	237
Montenegro Stamford, Tânia Lúcia. Véase De Souza Lopes, Ana Catarina.....	367
Morales de León, Josefina. Desarrollo de una pasta para sopa diseñada de acuerdo a los gustos y recomendaciones nutricias para los ancianos.....	152
Morales, S.E. Véase Martínez-Bustos, F.....	50
Moreno, I.A.M. Véase Nogueira, J.N.....	62
Mosqueda, M. Véase Sangronis, E.....	146
Mucciarelli, Sara I. de. Véase Luquez, Norma de.....	359
Muñoz Ramos, José de Jesús. Véase Castellanos Javier Z.....	163
Muñoz, Sonia E. Véase Navarro, Alicia.....	276
Muñoz Villalobos, Jesús A. Véase Castellanos Javier Z.....	163

N

Navarro, Alicia. Composición de ácidos grasos saturados e insaturados en alimentos de consumo frecuente en Argentina.....	276
Navarro, P. Véase Elguezabal, L.....	224
Navas, Maritza. Véase Alarcón, Oscar M.....	118
Nepomuceno de Pontes Pessoa, Débora Catarine. Véase Martins Bion, Francisca.....	242
Nepote, Marcelo. Occurrence of <i>Aspergillus flavus</i> strains and aflatoxins in corn from Santa Fe, Argentina.....	262
Nevero Muñoz, Juan Antonio. Véase Amaya Guerra, Carlos Abel.....	127
Neves de Oliveira, María Cristina. Véase Luiz Ribeiro, Mara Lucia.....	352
Nogueira, J.N. Effect of calcium addition and acidification on the quality characteristics of canned okra (<i>Hibiscus esculentus</i> L).....	62
Núñez de Cassana, Luz Marina. Véase Fujimori, Elizabeth.....	305

O

Ochoa, María Teresa. Reability of the Western Ligand Blot method for the simultaneous relative estimations of serum insulin-like Growth Factor binding proteins (IGFBPs).....	331
Ordaz Ortiz, José Juan. Vida de anaquel y evaluación sensorial en tortillas de maíz elaboradas con conservadores y mejoradores.....	372
Ortiz de Bertorelli, Ligia. Véase Ramírez M., Alejandra O.....	234
Ortuño, Josefina. Importancia nutricional del selenio.....	6
Ortuño, Josefina. López, Ginés.....	203

P

Peña, Evelyn. Véase Meertens de R., Lesbia.....	311
Peralta, Inocencia. Véase Vera García, Rafael.....	77
Pereira, Paulo Luiz. Véase Rowe, André.....	285
Pérez, Betty M. Adiposidad y patrón de distribución en un grupo de preescolares de estratos socioeconómicos bajos de Caracas.....	38
Periago, María Jesús. Véase López, Ginés.....	203
Periago, María Jesús. Véase Ortuño, Josefina.....	6
Piontelli L., Eduardo. Véase Nepote, Marcelo.....	262
Piñero, Domingo. Véase Carias, Diamela.....	110

Pizarro, Fernando. Véase Kain, Juliana.....	101
Prado, Zaida. Véase Gotera-Prado, Zaida.....	362
Puig, Myriam. Véase Itriago, Ana.....	14

Q

Quintero, Jorge B. Véase Gotera-Prado, Zaida.....	362
--	-----

R

Ramírez M., Alejandra O. Características químicas y nutricionales del grano de cinco genotipos de Canavalia ensiformis	234
Ramírez, Guillermo. Véase Pérez, Betty M.....	38
Rebolledo, M.A. Véase Sangronis, E.....	141
Regueira Teodosio, Naíde. Véase Salzano Lago, Eunice.....	338
Reinosa-Fuller, José. Véase Alarcón, Oscar M.....	118
Reyes-Vega, M.L. Véase Contreras-Esquivel, J.C.....	208
Rincón, Alicia Mariela. Contenido de colesterol en carne de pollo y sus productos manufacturados.....	81
Rincón, Francisco. Véase López, Ginés.....	203
Rodrigo, Joaquín. Véase Ortuño, Josefina.....	6
Rodríguez de García, Raquel. Véase Hernández S., Pilar.....	44
Rodríguez de García, Raquel. Véase Hernández S., Pilar.....	47
Romero, J. Véase Contreras-Esquivel, J.C.....	208
Ros, Gaspar. Véase López, Ginés.....	203
Ros, Gaspar. Véase Ortuño, Josefina.....	6
Rowe, André. Colesterol em carnes bovinas, suínas, frangos e derivados de carnes comercializados em Maringá, Paraná, Brasil.....	282
Rozycky, V.R. Composición de nutrientes en especies vegetales autóctonas de la región de Chaqueña, Argentina.....	265
Ruiz de Rey, Gleywer. Véase Holmquist-Donquis, Ingrid.....	343

S

Salinas Pérez, Rafael. Véase Castellanos Javier Z	163
Salzano Lago, Eunice. Duración de la vida en ratas desnutridas, utilizando dieta básica del nordeste brasileño.....	338
Sánchez Castillo, Claudia P. The starch and total sugar content of Mexican fruit and vegetables.....	168
Sánchez-Gómez, Myriam. Véase Ochoa, María Teresa.....	331
Sánchez, María D. Composición mineral de la leche del Estado Mérida, Venezuela.....	271
Sangronis, E. Calidad de pastas suplementadas con salvado de arroz.....	141
Sangronis, E. Calidad de cocción de pastas largas suplementadas con salvado de arroz.....	146
Saubois, Adriana. Véase Nepote, Marcelo C.....	262
Serna-Saldivar, S.O. Effects of temperature, moisture and residence time in the properties of full fat soybean flour produced in a twin extruder.....	271
Serna Saldivar, Sergio Román O. Véase Amaya Guerra, Carlos Abel.....	127
Shamah-Levy, Teresa. Guías de alimentación y nutrición. Una propuesta didáctica.....	256
Silva, Tania M. Véase Alarcón, Oscar M.....	118
Skottner, Anna. Véase Ochoa, María Teresa.....	331
Solano, Liseti. Véase Meertens de R., Lesbia.....	311
Solano, María de Lourdes. Véase Sanchez Castillo, Claudia P.....	168
Solano, Pedro. Véase Ochoa, María Teresa.....	331

T

Tena-Flores, Jorge Alberto. Crecimiento antropométrico de la población escolar en zonas rurales y suburbanas de Durango, México.....	105
Terán, Elfida. Véase Alarcón, Oscar M.....	118
Tiba, M.A. Véase Nogueira, J.N.....	62
Tirapegui, Julio. Efeito da pectina e celulose nos níveis de somatomedina C e síntese de proteoglicano no músculo e cartilagem de ratos.....	323

U

Urizar, A.L. Efecto de la nixtamalización del maíz sobre el contenido de ácido fítico, calcio y hierro total y disponible.....	217
Urrieta, Roberto. Véase Amaya de C., Daisy.....	23

V

Vanucchi, Helio. Effect of different dietary levels of vitamin E on lipidperoxidation in rats.....	34
Varella Morandi, Márcia. Véase Vanucchi Helio.....	34
Vásquez, Maura. Véase Pérez, Betty M.....	38
Vásquez-Resenos, Claudia. Véase Shamah-Levy, Teresa.....	256
Vázquez Carrillo, Ma. Gricelda. Véase García Osorio, C.....	377
Vázquez Carrillo, Ma. Gricelda. Véase Ordaz-Ortiz, José Juan.....	372
Velásquez, Gladys. Véase Carias, Diamela.....	110
Vera García, Rafael. Minerals content of Paraguayan yerba mate (<i>Ilex paraguariensis</i> , S.H.).....	77
Vianna de Oliveira, Ida María. Véase Fujimori, Elizabeth.....	305
Victorio, M.G. Véase Martínez-Bustos, F.....	50
Visentainer, Jesuí Vergílio. Caracterização físico-química da acerola <i>Malpighia glabra</i> L. produzida na região de Maringá, Estado do Paraná, Brasil.....	70
Visentainer, Jesuí Vergílio. Véase Andrade, Airton Delfino.....	73

Z

Zannier, M.S. Véase Rozycki, V.R.....	265
--	-----

Indice por Materias del Volumen 47 - 1997

A

Acidos grasos , perfil de, en salchichas elaboradas en Venezuela.....	173
Acidos grasos , saturados e insaturados, composición de, en alimentos de consumo frecuentes en Argentina.....	276
Adiposidad , y patrón de distribución en un grupo de preescolares de estratos socioeconómicos bajos de Caracas.....	38
Aeromonas spp , prevalencia de, en agua de superficie.....	44
Alimentos venezolanos , de humedad intermedia, comportamiento microbiano y obstáculos en.....	224
Amaranthus mantegazzianus , concentrado proteico de. Caracterización físico-químico-biológica	359

C

Caldos de carne , efecto de adición de sal, tipo de corte y temperatura inicial de cocción sobre el contenido de proteínas y lípidos en. I. Carne de vacuno.....	362
Canavalia ensiformis , características químicas y nutricionales del grano de cinco genotipos de.....	234
Canned okra (<i>Hibiscus esculentus L.</i>) , effect of calcium addition and acidification on the quality characteristics of.....	62
Colesterol , contenido de, en carne de pollo y sus productos manufacturados.....	81
Colesterol , em carnes bovinas, suínas, frangos e derivados de carnes comercializados em Maringá, Paraná, Brasil.....	282
Conocimientos alimentarios , y nutricionales al inicio de la Educación Básica, un test para medir el nivel de... ..	157
Conocimientos alimentarios , y nutricionales de madres escolares de educación básica y media de diferentes niveles socioeconómicos.....	248
Corn , occurrence of <i>Aspergillus flavus</i> strains and aflatoxins in, from Santa Fé, Argentina.	262
Crecimiento antropométrico , de la población escolar en zonas rurales y suburbanas de Durango, México.....	105
Crecimiento en talla , de una población infantil, efecto de un programa de refuerzo alimentario sobre el.....	101
Cují (<i>Prosopis juliflora</i>) , propiedades funcionales de la proteína de.....	

F

Fatty acids , omega -3, in baked freshwater fish from south of Brazil.....	73
Fibra dietética , propiedades funcionales de la. Mecanismos en el tracto gastrointestinal.....	203
Frijol común , (<i>Phaseolus vulgaris L.</i>), hábitos preferenciales de los consumidores de, en México.....	163
Frijol endurecido , (<i>Phaseolus vulgaris L.</i>), nixtamalización de, para elaboración de tortillas, mediante mezclas frijol-maíz.....	377

G

Gestantes adolescentes , en São Paulo, Brasil, estado nutricional de.....	305
Guajillo peppers , evaluation of diferent solvent systems for the extraction and fractionation of oleoresins from	127
Guías de alimentación , y nutrición. Una propuesta didáctica.....	256

I

Indice cintura/cadera , relación con la masa corporal y con el porcentaje de grasa corporal total.....	315
---	-----

L

Lactación , contenido de zinc, cobre, hierro, calcio, fósforo y magnesio en los primeros días de.....	14
Lactancia , materna, crecimiento del menor de un año con, exclusiva en relación a la referencia OMS 1994.....	29
Leche , composición mineral de la, del Estado Mérida, Venezuela.....	271
Leches maternas , de mujeres venezolanas, variaciones temporales en la composición y aporte de macronutrientes y minerales en.....	110
Lectinas y azafrán , actividad antitumoral de compuestos naturales.....	195
Leite pasteurizado , pontos críticos de controle no fluxograma de beneficiamento do.....	367

M

Maíz , efecto de la nixtamalización del, sobre el contenido de ácido fítico, calcio y hierro total y disponible.....	217
Malpighia glabra L. , caracterização físico-química da acerola, produzida na região de Maringá, Estado do Paraná, Brasil.....	70
Mexican fruit , and vegetables, the starch and total sugar content of.....	168
Multimistura , uso de uma, como suplementação alimentar: estudo em ratos.....	242

N

Niños con diarrea , desarrollo y evaluación de una fórmula para, a base de auyama, arroz, pollo y aceites vegetales.....	57
Nutrición escolar , en América Latina, programas de. Un análisis.....	299

P

Pan , envejecimiento del. Efecto combinado de α -amilasa bacteriana y emulsificante en la textura y en las características amilográficas de la miga.....	229
Paraguayan yerba mate , minerals contents.....	77
Pasta para sopa , desarrollo de una, diseñada de acuerdo a los gustos y recomendaciones nutricias para los ancianos.....	152
Pectina , revisión: extracción microbiológica y enzimática de.....	208
Pectina e celulosa , efeito da, nos níveis da somatomedina C e síntese de proteoglicano no músculo e cartilagem <i>Plesiomonas shigelloides</i> , prevalencia de, en agua de superficie.....	47
Protein sorghum grains , tannin elimination and improvement of the digestibility of	131

R

Rainbow trout , (<i>Oncorhynchus mykiss</i>), pigmentation of the, with oil-extracted astaxanthin from the langostilla (<i>Pleuroncodes planipes</i>).....	237
Ratas desnutridas , duración de la vida en, utilizando dieta básica del nordeste brasileño.....	338

S

Salvado de arroz , calidad de pastas suplementadas con.....	141
Salvado de arroz , calidad de cocción de pastas largas suplementadas con.....	146
Selenio , importancia nutricional del.....	6
Serum , insulin-like Growth Factor Binding proteins (IGFBPs), reliability of the Western Ligand Blot method for the simultaneous relative estimations of.....	331

Serum level, of Zn, Cu and Fe in healthy schoolchildren residing in Mérida, Venezuela.....	118
Soja BR-13, germinação de, e Paraná: efeito sobre os constituintes minerais.....	352
Sorgo, (<i>Sorghum bicolor</i> (L.) Moench), cambios en algunos factores antifisiológicos y nutritivos de las semillas de, durante la germinación.....	136
Soybean flour, effects of temperature, moisture and residence time in the properties of full fat, produced in a twin extruder.....	66
<i>Staphylococcus aureus</i>, y <i>Salmonella spp.</i>, efecto de microondas sobre, inoculados en carne molida congelada.....	123

T

Tortillas de maíz, vida de anaquel y elaboración sensorial en, elaboradas con conservadores y mejoradores.....	372
---	------------

V

Vitamin E, effects of different dietary levels of, on lipid peroxidation in rats.....	34
Vegetales autóctonos, composición de nutrientes en especies, de la región Chaqueña, Argentina.....	265

Y

Yellow rice, Characterization of, and development of instant flours by hydrothermal process.....	50
Yuca (<i>N. esculenta Crantz</i>), elaboración de una harina integral de, para alimentación de pollitos de engorde. Parte I. Caracterización químico-nutricional de hojas, raíces y harina integral de yuca.....	382
Yuca (<i>N. esculenta Crantz</i>), elaboración de una harina integral de, para alimentación de pollitos de engorde. Parte II. Evaluación de una harina integral de yuca en pollitos de engorde.....	387

Z

Zinc, evaluación del estado de, en ancianos institucionalizados.....	311
Zinc plasmático, valores de, en una población infantil marginal de Maracaibo, Venezuela.....	23

Sociedad Latino Americana de Nutrición

S.L.A.N.

La Sociedad Latinoamericana de Nutrición (SLAN) fue creada hace más de 25 años con el fin de integrar los esfuerzos de profesionales calificados para promover y mejorar el conocimiento de los problemas nutricionales de los países de la región y de las alternativas de prevención y tratamiento que ofrece la nutrición como ciencia.

Cualquier persona que se encuentre profesionalmente activa o que haya contribuido de manera significativa al avance de la nutrición o disciplinas afines, puede asociarse a SLAN, para lo cual debe enviar una carta de solicitud avalada por dos Socios Activos y su curriculum actualizado. Debe igualmente anexar la documentación que pruebe la publicación de por lo menos, dos trabajos en revistas de nivel internacional en los últimos cinco años.

La solicitud puede dirigirse a la Presidencia de la Sociedad, en Ciudad de Guatemala, a los Vocales representantes de Area o a los Capítulos de SLAN en los respectivos países.

El Consejo Directivo está integrado por: Hernán L. Delgado (Presidente), Alejandro O'Donnell (Presidente Electo), Rafael Flores (Secretario), María Teresa Menchú (Tesorera), Esther Casanueva, Elizabeth Vargas de Frias, Manuel Grillo, Zayda Gotera de Prado, Héctor Araya, Olga María Amancio y Carlos Hernán Daza (Vocales).

Los Socios deben pagar una cuota anual de US \$30, que incluye la subscripción de la revista.

El órgano oficial de SLAN es la conocida revista Archivos Latinoamericanos de Nutrición (ALAN), la cual vuelve a ser editada desde 1992 en Caracas, Venezuela. Los manuscritos para publicación deben ser enviados al Editor General, Dr. Virgilio Bosch, o al Editor Asociado, Dr. José Félix Chávez.

La correspondencia destinada a la SLAN debe dirigirse al Dr. Hernán L. Delgado, INCAP, Apartado Postal 1188. Guatemala, C.A. (Fax: 502-2. 736529) y la de ALAN al Apartado 62.778, Chacao, Caracas 1060, Venezuela o a su número de Fax: (58-2) 2848543.

¿CAMBIO DE DOMICILIO?

¿CHANGING YOUR ADDRESS?

Por favor, escriba su nueva dirección abajo y envíela al Departamento de Suscripciones de ALAN, adjuntando la etiqueta de un sobre de envío. Le rogamos avisarnos con 60 días de anticipación/**Please print your new address below and return to the Journal Subscription Dept. with our label. Please advise 60 days in advance.**

Nombre/Name:

Calle/Street:

Ciudad/City:

Estado, País/State, Country:

Código Postal/Postal Code:

Por favor enviar ALAN a mi nueva dirección a partir de: / **Date new address effective:**

Sociedad Latino Americana de Nutrición

S.L.A.N.

SOLICITUD DE INSCRIPCION

Nombre: _____

Título Profesional: _____

Estudios de Postgrado: _____

Cargo: _____

Lugar de trabajo: _____

Dirección del trabajo: _____

Código Postal: _____ Ciudad: _____

Teléfono: _____ Fax: _____ Télex: _____

Dirección Postal: _____

Código Postal: _____ Ciudad: _____ País: _____

Teléfono: _____ Fax: _____ Télex: _____

Fecha de la solicitud: ____ / ____ / ____

Anote las referencias bibliográficas de dos de sus publicaciones más recientes:

1. _____

2. _____

Socios de SLAN que le postulan

Nombre:

Firma:

Adjunte su Curriculum Vitae actualizado.

La cuota anual de SLAN es de \$30 con la revista Archivos Latinoamericanos de Nutrición y de \$10 sin la revista.
Los cheques deben ser emitidos en US \$ a nombre de: SOCIEDAD LATINOAMERICANA DE NUTRICION.

Artes Finales: Amerik Solutions C.A., Caracas, Venezuela
Teléfono (02) 993.81.43

Portada: Chávez & López, Diseño Gráfico, Caracas, Venezuela
Teléfono (02) 285.55.29

Impresión: Editorial Texto C.A., Caracas, Venezuela
Teléfonos (02) 62.24.85 - 62.87.30

SOCIEDAD LATINOAMERICANA DE NUTRICION (SLAN)

La Sociedad Latinoamericana de Nutrición (SLAN) fue creada el 10 de Noviembre de 1965 en ocasión de celebrarse el Primer Congreso de Nutrición del Hemisferio Occidental. El actual Consejo Directivo de la SLAN está constituida por los siguientes miembros:

Presidente	Dr. Hernán L. Delgado
Presidente Electo	Dr. Alejandro O'Donnell
Secretario	Dr. Rafael Flores
Tesorero	Lic. María Teresa Menchú
Vocal	Dra. Esther Casanueva
Vocal	Dra. Elizabeth Vargas de Frías
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

Programas de nutrición escolar en América Latina. Un análisis Hugo Amigo C.....	299
--	-----

TRABAJOS DE INVESTIGACION

Nutrición Humana

Estado nutricional de gestantes adolescentes en São Paulo, Brasil Elizabeth Fujimori, Ida María Vianna de Oliveira, Luz Marina Núñez de Cassana y Sophia Cornbluth Szarfarc.....	305
Evaluación del estado de zinc en adultos mayores institucionalizados Lesbia Meertens de R., Liseti Solano y Evelyn Peña.....	311
Relación del índice cintura/cadera con la masa y el porcentaje de grasa corporal Yolanda Hernández de Valera y Rosa A Hernández H.....	315

Bioquímica Nutricional

Efeito da pectina e celulose nos níveis de somatomedina C e síntese de proteoglicano no músculo e cartilagem de ratos Julio Tirapegui, Gloria Silva, Kristine Bruscatto, Ana Paula Silvatti, Solange Tomoe Osuka.....	323
Reliability of the Western ligand blot method for the simultaneous relative estimations of serum insulin-like growth factor binding proteins (IGFBPs) María Teresa Ochoa, Karin Fhølenhag, Kjell Malmjöf, Myriam Sánchez-Gómez, Anna Skottner.....	331
Duración de la vida en ratas desnutridas, utilizando dieta básica del nordeste brasileño Eunice Salzano Lago, Naide Regueira Teodósio, Débora Catarine N. de Pontes Pessoa, José Eulálio Cabral Filho.....	338

Ciencia de Alimentos

Propiedades funcionales de la proteína de cují (<i>Prosopis juliflora</i>) Ingrid Holmquist-Donquis y Gleywer Ruíz de Rey.....	343
Germinação de soja BR-13 e Paraná: Efeito sobre os constituintes minerais Mara Lucia Luiz Ribeiro, Elza Iouko Ida y María Cristina Neves de Oliveira.....	352
Concentrado proteico de <i>Amaranthus mantegazzianus</i> . Caracterización físico - químico - biológica Norma de Luquez, Silvia Fernández, Mirta L. de Arellano y Sara I. de Mucciarelli.....	359
Efecto de adición de sal, tipo de corte y temperatura inicial de cocción sobre el contenido de proteínas y lípidos en caldos de carne: I. Carne de vacuno Zaida Gotera-Prado, Jorge B. Quintero, Nelson Huerta-Leidenz y Zaida Prado Gotera.....	362

Tecnología de Alimentos

Pontos críticos de controle no fluxograma de beneficiamento do leite pasteurizado Ana Catarina de Souza Lopes & Tânia Lúcia Montenegro Stamford.....	367
Vida de anaquel y evaluación sensorial en tortillas de maíz elaboradas con conservadores y mejoradores José Juan Ordaz Ortíz y María Gricelda Vásquez Carrillo.....	37
Evaluación de la calidad nixtamalera-tortillera de mezclas maíz-frijol endurecido (<i>Zea mays-Phaseolus vulgaris</i>) C. García-Osorio, y M.G. Vásquez Carrillo.....	377

Nutrición Animal

Elaboración de una harina integral de yuca (<i>N. esculenta Crantz</i>) para alimentación de pollitos de engorde. I. Caracterización químico-nutricional de hojas, raíces y harina integral de yuca Julio Ballinas Díaz, Carlos Cruz Mondragón, Rutilo Castellanos Molina y Alfredo Larios Saldaña.....	382
Elaboración de una harina integral de yuca (<i>N. esculenta Crantz</i>) para alimentación de pollitos de engorde. II. Evaluación de una harina integral de yuca en pollitos de engorde Julio Ballinas Díaz, Alfredo Larios Saldaña, Carlos Cruz Mondragón, Rutilo Castellanos Molina y Ernesto Avila González.....	387

NOTAS.....	391
INFORMACION PARA LOS AUTORES.....	393
INDICE GENERAL DEL VOLUMEN 47, 1997.....	400
INDICE DE AUTORES.....	404
INDICE DE MATERIAS.....	411