

Volumen 44. N° 1. Marzo 1.994

ALAN

A R C H I V O S

Organo Oficial de la Sociedad Latinoamericana de Nutrición

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

Continuación de Archivos Venezolanos de Nutrición

D E N U T R I C I O N



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


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

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

Dirección: Archivos Latinoamericanos de Nutrición

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

ENTIDADES PATROCINANTES

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

Archivos Latinoamericanos de Nutrición

Organo Oficial de la
Sociedad Latinoamericana de Nutrición

VOL 44

MARZO 1994

Nº 1

Contenido

**BIBLIOTECA
FUNDACION CAVENDES**

Páginas

EDITORIAL	1
ARTICULOS GENERALES	
Evaluación de la yuca como materia prima no convencional para la industria alimentaria. Violeta T. Pardo Sedas y Krzysztof N. Waliszewski Kubiak.....	2
TRABAJOS DE INVESTIGACION	
Nutrición Humana	
Lactose vs. lactose free regimen in children with acute diarrhoea: A randomized controlled trial. Juan M. Lozano and Jaime A. Cespedes.....	6
Efectos de diferentes niveles de almidón y fibra dietética de preparaciones sobre el consumo inmediato y subsecuente de preescolares de 24 a 48 meses de edad. Héctor Araya, Gloria Vera, Marcela Alviña, Andrés Fuentes, M. Teresa Oyarzun y Nelly Pak.....	12
Nutrición Animal	
Effect of addition of brewer's yeast to soy protein and casein on plasma cholesterol levels of rabbits. Jorge De Abreu and Nancy Millán.....	18

Ciencias de Alimentos

Propiedades de malta diastásica de sorgo blanco Helbert David Almeida Dominguez y Lloyd William Rooney.....	23
Functional properties of sunflower seed meal obtained by ethanol extraction. Marisa A.B. Regitano-d'Arce, Renata de Paula Assis and Urgel de Almeida Lima.....	29
Sunflower seed protein concentrates and isolates obtention from ethanol oil extraction meals- (Technical note). Marisa A.B. Regitano-d'Arce, Erika M. Roel Gutiérrez and Urgel de Almeida Lima.....	33
Barras de cereales, mani y amaranto dilatado: composición química y estabilidad en almacenamiento acelerado. Berta Escobar A., Ana María Estévez A., Magaly Vásquez D, Elena Castillo y Enrique Yáñez.....	36
Latin Foods: Composición de Alimentos	
Efecto de la maduración y el secado en el contenido de carotenoides pro-vitamina A en chile (<i>Capsicum annuum var. Anaheim</i>). Silvia Y. Moya, Luis A. Mejía, Elvira González de Mejía y Francisco A. Vázquez.....	41
Clasificación de mieles comerciales venezolanas. Patricia Vit, Isbelia González de Martorelli, y Santiago López-Palacios.....	47
Caracterización química y nutricional del amaranto (<i>Amaranthus cruentus</i>). Enrique Yáñez, Isabel Zacarías, Denise Granger, Magaly Vásquez y Ana María Estévez.....	57
NOTAS	63
INFORMACION PARA LOS AUTORES	64

Archivos Latinoamericanos de Nutrición

Official Publication of the
Latin American Society of Nutrition

VOL 44

MARCH 1994

Nº 1

Contents

	Pages
EDITORIAL	1
GENERAL ARTICLES	
Cassava evaluation as a no conventional resource for food industry. Violeta T. Padio Sedas and Krzysztof N. Waliszewski Kubiak.....	2
RESEARCH PAPERS	
Human Nutrition	
Lactose vs. lactose free regimen in children with acute diarrhoea: A randomized controlled trial. Juan M. Lozano M.D. and Jaime A. Cespedes M.D.....	6
Effect of different starch and dietary fiber levels on food an energy intake of one meal and subsequent meal in preschool children. Héctor Araya, Gloria Vera, Marcela Alviña, Andrés Fuentes, M. Teresa Oyarzun and Nelly Pak.....	12
Animal Nutrition	
Effect of addition of brewer's yeast to soy protein and casein on plasma cholesterol levels of rabbits. Jorge De Abreu and Nancy Millán.....	18

Food Science

Properties of white sorghum diastatic malt.

Helbert David Almeida Dominguez and Lloyd William Rooney..... 23.

Functional properties of sunflower seed meal obtained by ethanol extraction.

Marisa A.B. Regitano-d'Arce, Renata de Paula Assis and Urgel de Almeida Lima..... 29

Sunflower seed protein concentrates and isolates obtention from ethanol oil extraction meals-

(Technical note). Marisa A.B. Regitano-d'Arce, Erika M. Roël Gutiérrez and Urgel de Almeida Lima..... 33

Cereal bars with peanut and puffed amaranthus: chemical composition and stability in accelerated

storage. Berta Escobar A., Ana María Estévez A., Magaly Vásquez D., Elena Castillo, Enrique Yáñez..... 36

Latin Foods: Food Composition

Effect of ripening and drying on pro-vitamin A carotenoids content in pepper

(*Capsicum annuum var. Anaheim*). Silvia Y. Moya, Luis A. Mejía,
Elvira González de Mejía and Francisco A. Vázquez..... 41

Clasification of commercial honeys in Venezuela.

Patricia Vit, Isbelia González de Martorelli, and Santiago López-Palacios..... 47

Chemical and nutritional characterization of amaranthus (*Amaranthus cruentus*).

Enrique Yáñez, Isabel Zacarías, Denise Granger, Magaly Vásquez and Ana María Estévez..... 57

NOTES..... 63

INSTRUCTIONS TO AUTHORS..... 64

Editorial

Ordenamiento de los problemas nutricionales

Cada país viene utilizando metodologías diferentes para evaluar la situación alimentaria y nutricional de su población. A veces se hace difícil hacer comparaciones entre países ya que mientras unos dedican prioritaria atención a los aspectos de disponibilidad y consumos de alimentos, otros acentúan más los aspectos demográficos de mortalidad y morbilidad. Recientemente algunos países (Venezuela entre otros) han reconsiderado el criterio auspiciado por Leavell y Clark (1965), sobre la «historia natural de la desnutrición». Esta proyección tiene ventajas, particularmente en el área docente, pero no facilita una diferenciación de estrategias específicas para cada etapa.

Creo que el tema merece alguna discusión. Sería de interés que los lectores de ALAN pudieran intervenir en esta Revista a fin de lograr alguna fórmula que pueda ser aceptada por una mayoría de países. Para comenzar, he aquí nuestra propuesta: 1. Problemas relacionados con la desnutrición actual, moderada y grave. 2. Aspectos relativos a la desnutrición crónica o secuelas de una desnutrición pasada (talla baja, etc.). 3. Deficiencia de micronutrientes específicos (vitamina A, Fe, I, etc.). 4. Procesos o enfermedades crónicas no transmisibles (obesidad, aterosclerosis, etc.), asociadas a los hábitos de alimentación. 5. Problemas relacionados con la «inseguridad alimentaria familiar», es decir los temas vinculados con ingresos, precios, salarios reales, consumo y sobre todo la pobreza. 6. La Seguridad (o Soberanía) Alimentaria Nacional: problemas de suficiencia y autonomía alimentaria.

La ventaja de dicho ordenamiento es de que cada una de esas manifestaciones o grupo de manifestaciones, tiene una estrategia de acción propia y en su conjunto constituirán un **plan nacional de alimentación y nutrición**. Esperamos la reacción de los lectores.

José María Bengoa

Evaluación de la yuca como materia prima no convencional para la industria alimentaria

Violeta T. Pardo Seda¹ y Krzysztof N. Waliszewski Kubiak²

RESUMEN. Se describe brevemente la composición química promedio de la yuca cultivada en diversas regiones de México, siendo el componente más importante el almidón, que permite el aprovechamiento de un recurso natural como materia prima no convencional para la industria alimentaria en la elaboración de productos tales como, dextrinas, jarabes glucosados y fructosados. Como ingrediente, el almidón de yuca se utiliza en la producción de alimentos para bebés, embutidos, salsas y mayonesas. Los almidones modificados se emplean principalmente en panadería en la producción de pies, rellenos y productos congelados, ya que por sus características físico-químicas imparten estabilidad y proporcionan un producto final que se mantiene fresco y de excelente textura.

SUMMARY. Cassava evaluation as a no conventional resource for food industry. Mean results of the chemical composition of cassava cultivated in the different regions of Mexico are presented and the most important ingredient is starch which permits that this natural resource is employed as a no-conventional ingredient in food industry, for dextrins, glucose and fructose syrups production. Cassava starch is used for baby foods, salsa and mayonnaise manufacture. Because of its physico-chemical properties, modified starches are employed in bakery for pies, refills and frozen foodstuffs production and have been considered as stabilizers, yielding a final product which is maintained fresh and of excellent texture.

INTRODUCCION

A pesar de aún permanecer olvidada por científicos y políticos de nuestro país, la yuca (*Manihot esculenta*) ocupa, de acuerdo a los datos proporcionados por la FAO, el cuarto lugar en producción de alimentos en los países en vías de desarrollo, después del arroz, el trigo y el maíz. Representa el alimento básico para 500 millones de personas en el mundo, suministrando el 50% de sus necesidades energéticas, según Okezie y Kosikowski (1).

De Brujin y Fresco (2), señalan que las principales ventajas del cultivo de la yuca que han motivado el interés en su estudio son las siguientes:

1. Se cultiva en tierras poco fértiles y con poca precipitación pluvial como última alternativa en el ciclo de cultivos.
2. Presenta uno de los mayores rendimientos en materia seca por hectárea por año en comparación con otros cultivos tradicionales.

3. Requiere un mínimo de fuerza laboral para su cultivo.
4. El costo de la producción de una unidad de energía metabolizable es uno de los más bajos.

Al mismo tiempo, la yuca presenta características físico-químicas y nutricionales que la convierten en una materia prima no convencional de gran importancia para la industria alimentaria. Los valores que se presentan a continuación han sido obtenidos a través de los estudios realizados por los autores y que han originado la línea de investigación para el aprovechamiento industrial de este recurso.

COMPOSICION QUIMICA DE LA YUCA

Contenido de humedad y técnicas de almacenamiento. En la Tabla 1 se presentan los valores promedio de 24 estudios realizados por Waliszewski y Pardo (3) en la yuca cultivada en diversas regiones del país. Como se puede apreciar, la yuca se caracteriza por un elevado contenido de humedad que oscila de 58 hasta 68%, lo cual trae como consecuencia la rápida descomposición del tubérculo durante su almacenamiento, de ahí que el período entre la cosecha y su industrialización deba ser de un máximo de cuatro días. La prolongación de la vida

1 Laboratorio de Control de Agua y Alimentos. Dirección General de Salud Ambiental. Secretaría de Salud. Veracruz.

2 Centro de Graduados. Instituto Tecnológico de Veracruz

de anaquel se puede lograr mediante la aplicación de diversas técnicas de almacenamiento, tales como el uso de bolsas de polietileno aplicando al tubérculo micostáticos en forma de asperción, o bien, la técnica del encerado. Otra técnica consiste en el enterramiento de la raíz en el suelo cubierta con tierra de humedad controlada de 60-70%. Algunos métodos están enfocados a la congelación o al enfriamiento mencionados por Balgopalan et al., Rickard y Coursey y por Wheatly (3,4,5). Sin embargo, ninguna de éstas reúnen las características de bajo costo y alta eficiencia, por lo que la única solución viable consiste en la deshidratación de la raíz para lograr su estabilidad en el almacenamiento hasta su industrialización final. Para ello se debe disminuir el contenido de humedad por debajo de 13% mediante la aplicación de diversos métodos convencionales de secado, tales como el secado solar en el suelo de rebanadas de yuca, el secado solar en charolas, el secado industrial en forma de pellet, el cual es posteriormente molido para obtener la harina de yuca como se describe en Balagopalan et al., Wheatly Chávez et al. y por McFarlane (4,6,7,8).

TABLA 1
COMPOSICION QUIMICA DE LA RAIZ FRESCA,
LA HARINA INTEGRAL Y LA HARINA SIN CASCA-
RA (g/ 100g)

Compuesto	A	B	C
Materia seca	36.4±4.2	88.9±0.9	89.1±0.8
Almidón	29.0±3.0	72.1±5.1	77.5±5.0
Glucosa	0.6±0.02	1.2±0.05	1.3±0.05
Cenizas	2.5±0.6	5.8±1.3	3.9±0.7
Proteína Total	1.1±0.1	2.6±0.2	2.3±0.1
Fibra total	2.2±0.1	4.9±0.3	1.7±0.1
Lípidos	1.0±0.05	2.3±0.1	2.4±0.1

- A Yuca fresca
B Harina de yuca integral
C Harina de yuca sin cáscara

Almidones. Por lo que respecta a los sólidos, su principal componente es el almidón que representa el 87% del total. En la Tabla 2 se presentan los valores comparativos de las propiedades físico-químicas del almidón de la yuca comparadas con las de otros cereales y tubérculos (4,9,10). El contenido de la fracción de amilosa varía de 16 a 18% indicando que se encuentra en forma no-cristalina, mientras que la amilopectina varía entre 82 a 84%. Los almidones de la yuca se gelatinizan a temperaturas que oscilan entre 60-70° C; estos límites de gelatinización del almidón de la yuca, comparados con los observados en otros cultivos, se ubican entre los de la papa y el maíz. El elevado contenido de almidón de la yuca le confiere un alto valor industrial, ya que se facilita el proceso de purificación del mismo debido al bajo contenido de otros

nutrimentos. Según Gevaudan et al (11), esto permite obtención de un almidón de características óptimas en color y de bajo costo.

TABLA 2
PROPIEDADES FISICO-QUIMICAS DE ALGUNOS
ALMIDONES

Propiedad	Yuca	Trigo	Maíz	Papa	Arroz
Amilosa (%)	16-18	26	28	23	18
Amilopectina (%)	82-84	74	72	77	82
Temp. de gelatinización (°C)	60-70	53-65	62-70	58-66	61-78
Fuerza de expansión	21	21	24	20	19
Peso molecular (g/mol)	215000	130000	276000	210000	325000
Diam. del granulo (µm)	6-36	2-38	21-96	15-100	3-9

Fracción proteica. La fracción proteica de la yuca se caracteriza por el contenido de casi todos los aminoácidos esenciales en una proporción adecuada, siendo su limitante su bajo porcentaje de metionina. La adición de metionina sintética o proteínas ricas en este aminoácido, ayudan a elevar el valor nutricional de la proteína de yuca (12). La pequeña cantidad de proteína presente en la yuca limita su uso en la alimentación humana y animal, por lo que es indispensable su suplementación con otros recursos ricos en proteína, como lo señalan Montaldo y Stevenson y Jackson (13,14). En algunos países de América Latina, se ha intentado mejorar el valor nutricional de la yuca mediante la producción de harinas compuestas de yuca con harinas de oleaginosas, leguminosas y nueces molidas, que han sido utilizadas a su vez en la elaboración de productos como panes, galletas, pastas y bebidas, balanceados para proporcionar hasta un 15% de proteína en su formulación. Solamente pocos investigadores han estudiado las propiedades físico-químicas del almidón y harina de la yuca en relación a su calidad panificadora, observándose que el almidón de la yuca gelatiniza en proporción superior al almidón de trigo en el pan e imparte una mejor estructura a la migaja (15,16,17).

Otros nutrimentos. Lamentablemente hasta hoy se sabe poco sobre las características químicas de la grasa y de la fibra contenidas en la yuca. La fracción mineral es baja, siendo sus principales componente el K, Ca, Mg y P de acuerdo con lo publicado por Bradbury y Holloway (18).

Componentes antinutricios. La yuca se caracteriza por la presencia de ciertos componentes antinutricionales, entre los cuales los más importantes son dos glicósidos: linamarina y lotustralina (4,19,20). Estos compuestos se encuentran distribuidos en toda la planta incluyendo la raíz y su concentración puede variar de 15 a 400 ppm expresados como ácido cianhídrico (HCN) por kilogramo de materia fresca. El sabor

característico de estos glicósidos es amargo, por lo que a veces se clasifica a la raíz como dulce o amarga dependiendo del contenido de los mismos; aunque cabe mencionar que dicha clasificación es arbitraria, ya que existen otros compuestos que también influyen en el sabor final del tubérculo. Estos glicósidos son degradados por las enzimas linamarasas presentes en la misma planta cuando las raíces y las hojas son preparadas para su consumo (21) o por tratamiento térmico generando ácido cianhídrico. Debido a la toxicidad de este último para la salud, es indispensable detoxificar a la yuca antes de consumirla, lo cual se puede lograr mediante el calentamiento, ya que el punto de ebullición del ácido es de 21°C. La eliminación de los glicósidos se puede lograr también mediante el secado, el remojo en agua por 24-48 horas que permite la hidrólisis de casi la totalidad de estos compuestos y por la ebullición en agua durante 10-15 minutos de acuerdo con Balagopalan et al., Kay y con Wood (4,20,22).

PERSPECTIVAS DE USO EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA

En la gran mayoría de los países productores la yuca se consume en forma fresca. La industrialización está enfocada al secado o a la producción de almidón. Debido a que el tubérculo se caracteriza por una baja cantidad de proteína y de aminoácidos libres, lo cual es muy favorable para su procesamiento, se facilita la extracción del almidón con agua y permite obtener un producto de alta pureza y con un color muy blanco, según De Brujin y Fresco y Cock (2,23).

El almidón se considera como ingrediente principal de los alimentos y responsable especialmente de la textura del producto final. Comparando con los almidones provenientes de otros recursos, el almidón de la yuca se caracteriza por presentar una textura cohesiva muy extensa, con alta transparencia, buena estabilidad y con un costo bajo y competitivo (24). La temperatura de gelatinización del almidón de yuca, próxima a la del maíz, corresponde a una viscosidad tal que éste puede ser aprovechado como espesante en productos como sopas cremosas, salsas, rellenos para pie y pudines. Los principales países productores del almidón de yuca, tales como Tailandia, Brasil e Indonesia, no lo procesan para obtener sus derivados, sino únicamente realizan un tratamiento térmico suave para pregelatinizar el almidón, aglomerarlo y obtener el producto en forma de perlas o de pellet (2).

Existen diferentes técnicas de modificación química del almidón que pueden ser aplicadas en el almidón de la yuca y que permiten obtener un producto de propiedades más específicas y con un valor agregado. En la forma pregelatinizada, el almidón de la yuca se utiliza en la elaboración de alimentos para bebés y que ha sido comercializado por Gerber®, como ingrediente en la producción de algunos embutidos, así como aglutinante de las proteínas de la leche y en alimentos extruidos y pastas (1,4). También se puede emplear en la elaboración de algunos refrescos como estabilizante de compuestos suspen-

didados, en la producción de azúcar glass para panadería y para algunas salsas muy espesas. El alimento más popular basado en el almidón pregelatinizado de yuca es «Instant Pudding», por lo que la reconocida marca de postres Minute Rice® de la Kraft General Food Corporation lo emplea con este propósito.

De acuerdo con Bagalopan et al. y Cock (4,23), la modificación del almidón de yuca permite la obtención de diversos productos:

1. Almidón tratado con ácidos, en el cual se disminuye la viscosidad pero aumenta la fuerza del gel y la transparencia de suspensión en agua. Este almidón tiene un uso extenso en la confección y la producción de pasteles.
2. Almidón oxidado con solución alcalina de hipoclorito, el producto final tiene poca fuerza como gelatinizante pero es mucho más transparente. Este tipo de almidón tiene aplicación principalmente en la producción de dulces transparentes y es empleado en los postres de la marca Jello®, así como ingrediente para cubrir superficies de algunos alimentos, como los empanizados.
3. Los almidones pueden ser modificados mediante enlaces de entrecruzamiento, obteniéndose un producto muy transparente y resistente al ácido. Su principal uso se encuentra en la industria panadera en la producción de pies, rellenos y salsa ayudando en la estabilidad final del producto.
4. Los almidones pueden ser modificados también por acetilación o por hidroxiacetilación, aumentando de esta manera su transparencia y la estabilidad en temperaturas muy bajas. Esto se utiliza en panadería en productos congelados como pies y pizzas.
5. Los almidones pueden ser modificados mediante la introducción de grupos iónicos, principalmente los fosfatos. Los ésteres fosfóricos del almidón de yuca son muy estables e inhiben el proceso de la retrogradación del almidón, ofreciendo de esta manera un producto final más fresco y con buena textura. Estos ésteres son también excelentes emulsificantes del aceite en agua, por lo que son utilizados principalmente en la elaboración de mayonesas.

El almidón de yuca se considera como una materia prima muy importante en la elaboración de varios productos de degradación del almidón, como dextrinas de pesos moleculares diferentes y jarabes glucosados o fructosados. El empleo de las amilasas bacterianas termoestables permite controlar el proceso con mucha mayor velocidad y obtener un producto final con las características deseadas. De acuerdo a la experiencia, se puede recomendar el uso de las enzimas de la compañía Solvay Enzyme Inc. (anteriormente Miles) y con un incremento gradual de la temperatura se pueden establecer las condiciones de hidrólisis de hasta 33% del almidón en un reactor y con una eficiencia del 92% de rendimiento de glucosa, aumentándose el rendimiento global del proceso

(25). El constante aumento en la producción y demanda de jarabes con alto contenido de fructosa en base del almidón de maíz, representa para los productores de yuca una gran oportunidad para emplear este tubérculo en la producción del jarabe. Actualmente las pruebas no han pasado del nivel de laboratorio, pero los resultados indican las ventajas que presenta la yuca sobre el maíz en este tipo de proceso. El almidón de yuca en forma integral o purificada tiene una gran potencialidad en la obtención de diferentes productos por vía fermentativa, tales como alcohol etílico, ácido láctico, acetona y butanol, así como las biomásas de hongos y levaduras para propósitos de alimentación humana y animal.

REFERENCIAS

1. Okezie B.O. & F.B. Kosikowski. Cassava as a Food. CRC Critical Reviews in Food Science and Technology. 17:259-275. 1983.
2. De Brujin G.H. & L.O. Fresco. The importance of cassava in world food production. Netherland Journal of Agricultural Science. 37:21-34. 1989.
3. Waliszewski K.N. & V.T. Pardío. El uso de la yuca en la alimentación animal. Tecnología Aviepecuaria en Latinoamérica. 4(45):10-12. 1991.
4. Balagopalan C., G. Padnam, S.K. Nanda & S.N. Moorthy. Cassava in food, feeds and industry. CRC Press Inc., p.113. Boca Raton Florida, USA. 1988.
5. Rickard J.E. & D.G. Coursey. Cassava storage. I. Storage of fresh cassava roots. Trop. Sci. 23:1-9. 1981.
6. Wheatly C.C. Storage of cassava roots for human consumption. En: Cassava: Research, Production and Utilization. UNDP and CIAT Publication. Colombia, p. 673. 1985.
7. Chávez C., K. Waliszewski & M.A. García. Utilization of a High Order Kinetic Model for Modeling Drying Rate in Cassava. Program & Abstracts. 1990 Institute of Food Technologists Annual Meeting. Anaheim, California, USA. 1990.
8. McFarlane J.A. Cassava storage. II Storage of dried cassava products. Trop Sci. 24:205-209. 1982.
9. Belitz H.D. & W. Grosch. Food Chemistry. Springer Verlag, p. 245. Berlín . 1987.
10. Eggleston G., P.E. Omoaka & A.U. Arowshegbe. Flour, starch and composite breadmaking quality of various cassava clones. Journal of the Science of Food and Agriculture. 62:49-59. 1993.
11. Gevaudan A., G. Chuzel, S. Didier & J. Andrieu. Physical properties of cassava mash. International Journal of Food Science and Technology. 24:637-645. 1989.
12. Dutra de Oliveira J.E. & E.B.Z. de Menezes Salata. Methionine-fortified manioc flour to combat protein malnutrition. Nutrition Reports International. 3:291-294. 1971.
13. Montaldo A. Whole plant utilization of cassava for animal feed. En: cassava as Animal Feed, Proc. Workshop. Nestel B. and Graham M. (Eds) University of Guelph, Guelph, Ontario, Canada, p.95-106. 1977.
14. Stevenson M.H. & N. Jackson. The nutritional value of dried cassava root meal in broiler diets. Journal of the Science of Food and Agriculture. 34:1361-1365. 1983.
15. João W. da S.J., L.G. Elías & R. Bressani. Efecto de diferentes tratamientos dietéticos sobre el consumo de dietas a base de tubérculos y leguminosas. Arch Latinoamer Nut. 30(2):187-199. 1980.
16. João W. da S.J., L.G. Elías & R. Bressani. Valor nutritivo de dietas elaboradas a base de tubérculos y leguminosas consumidas en tres proporciones diferentes. Arch Latinoamer Nutr. 34(2):315-320. 1984.
17. Pérez F. & P. Valle Vega. Elaboración de una fritura usando como base harina de yuca. memorias del XVII Congreso nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos. México, D.F. 1986.
18. Bradbury J.H. & W.D. Holloway. Chemistry of Tropical Root Crops: Significance for nutrition and agriculture in the Pacific. Australian Centre for international Agricultural Research p. 76. Canberra, Australia. 1988.
19. Bourdoux P., M. Mafuta, a. Janson & A.M. Ermans. I Cassava toxicity: the role of linamarin. En: Role of cassava in the Etiology of Endemic Goitre and Cretinism, Ermna A.M., Mbulamoko N.M., Delange F., and Ahluwalia R. (Eds) IDRC-136e, p.1. Ottawa, Ontario, Canada. 1980.
20. Kay D.E. Root Crops. Tropical Development and Research Institute. p. 30. London, England. 1987.
21. Jackson F.L.C., R.T. Jackson, B.O. Delumen, F.K. Sio, L. Dinkins and A.F.H. Muhammad, Cassava (*Manihot esculenta*) in Liberia: history, geography, traditional processing and cyanogenic glycoside levels. Ecology of Food and Nutrition, 28:227-242. 1992.
22. Wood T. The isolation, properties and enzymic breakdown of linamarin from cassava. Journal of the Science of Food and Agriculture. 17:85-91. 1966.
23. Cook J.H. Cassava. New Potential for a Neglected Crop. Westview Press. p.47. Boulder, Colorado, USA. 1985.
24. Leach M.W. Gelatinization of starch. En: Starch Chemistry and Technology. vol. I. Whistler R.L. and Paschall E.F (Eds) Academic Press, p.293. New York, USA. 1965.
25. Waliszewski, K.N., M.A. García & J. De la Cruz. Kinetics of enzymic hidrolisis of cassava flour starch-optimization and modeling. Interntional Journal of Food Science and Technology 27:465-472. 1992.

Recibido: 22-04-1993

Aceptado: 16-11-1993

Lactose vs. Lactose free regimen in children with acute diarrhoea: a randomized controlled trial

Juan M. Lozano M.D.,¹ and Jaime A. Céspedes M.D.²

SUMMARY. *Objective.* To determine whether the routine use of a lactose free formula (AL-110, Nestle Labs.) in hospitalized children aged one to 24 months reduces the duration of acute diarrhea (AD). *Methods.* After being stratified according to age and nutritional state, 28 and 24 patients were randomly allocated to receive AL-110 or lactose formula, respectively. The main outcome was the duration of diarrhoea after refeeding, both in hours and days. Secondary outcomes were evaluated by blind observers. Results were compared using t test, the Mann-Whitney test and Chi square. *Results.* No differences were found between the diets without and with lactose regarding duration of diarrhoea in hours (mean, 41,9 h vs 54.4 h; $p=0.247$) or days (median, 0 d vs 0 d; $p=0.717$), the percentage of failures (3.6% vs 8.3; $p=0.2$), and the mean weight increment (0.78 kg vs. 0.82 kg; $p=0.788$). The study power to find a 50% (27h) reduction of AD duration was 71%. *Conclusion.* Although the power of this trial was slightly below that previously fixed (80%), the results suggest that routine use of lactose free formula does not reduce the duration of AD in hospitalized children. **Key Words:** Acute diarrhoea, Lactose, Diet, Infant, Children, Randomized trial.

RESUMEN. *Dieta con o sin lactosa en niños con diarrea aguda: un experimento clínico aleatorio.* *Objetivo.* Determinar si el uso rutinario o de una fórmula láctea sin lactosa (AL-110, Lab. Nestlé) en niños entre uno y 24 meses de edad y hospitalizados reduce la duración de la diarrea aguda (DA). *Métodos.* Luego de ser estratificados por edad y estado nutricional, 28 y 24 pacientes fueron asignados al azar a recibir AL-110 o una fórmula con lactosa, respectivamente. La variable dependiente principal fue la duración de la diarrea luego de iniciar la alimentación, medida en horas y en días. La proporción de fallas terapéuticas y el incremento del peso corporal fueron variables secundarias. Estas variables fueron evaluadas por observadores ciegos. Los resultados fueron analizados usando las pruebas t, de Mann-Whitney y de Chi cuadrado. *Resultados.* No se encontraron diferencias significativas entre las dietas sin y con lactosa en la duración de la DA medida en horas (media, 41.9 h vs. 54.5 h; $p=0.247$) o en días (mediana, 0 d vs. 0 d; $p=0.717$), la proporción de fallas terapéuticas (3.6% vs 8.3; $p=0.2$), o el incremento promedio del peso corporal (0.78 kg vs. 0.82 kg; $p=0.788$). El poder del estudio para encontrar una reducción del 50% (27h) en la duración de la DA fue 71%. *Conclusión.* Aunque el poder de este experimento fue ligeramente inferior al calculado previamente (80%), los resultados sugieren que el uso rutinario de esta dieta sin lactosa no reduce la duración de la DA en niños hospitalizados. **Palabras clave:** Diarrea Aguda, Lactosa, Dieta, Lactante, Niño, Experimento Clínico Aleatorio.

INTRODUCTION

Acute diarrhoea (AD) is one of the leading causes of disease and death among children in developing countries,

producing 700-1000 million illness episodes and 4,6 million deaths every year (1). It is also well known that AD is a significant contributor to malnutrition (2,3,4). Thus, rapid reintroduction of food during the disease after rehydration is now considered a priority (5,6,7). However, the damage caused to the intestinal mucosa by the illness can temporarily reduce the activity of lactase, the enzyme responsible for the hydrolysis of lactose. The non hydrolysed lactose produces movement of water from the instestinal wall into the lumen, thereby worsening the diarrhoea. This complication has been reported in 15% to 50% of children with AD (8,9,10,11,12), and is more common in cases of viral etiology or when malnutrition is already present.

1 Instructor, Department of Pediatrics and Clinical Epidemiology Unit, Faculty of Medicine, Universidad Javeriana, Bogota, Colombia. Correspondence and Reprints: Juan M. Lozano MD. CDR/ARI, Office 6041. World Health Organization. CH-1211 Geneve 27, Switzerland. Telf: (4122)791 2547- Fax: (4122) 788 1813.

2 Instructor, Department of Pediatrics, Universidad Javeriana and Clinica Infantil Colsubsidio, Bogota, Colombia. Supported by The Rockefeller Foundation through the International Clinical Epidemiology Network (INCLEN), Colciencias and Laboratorios Nestle de Colombia.

The enzymes responsible for the hydrolysis of other carbohydrates (sucrose, maltose) are not affected in the same proportion during AD. Thus, routine withdrawal of lactose from the diet during the disease, replacing cow's milk by a formula with a different carbohydrate, would be a form of rapid refeeding avoiding lactose intolerance. However, this change in the formula may be both inconvenient and confusing, and for low-income families, it may be a significant financial burden as well. Several randomized trials comparing lactose and lactose free regimens during diarrhoea in children have produced contradictory results, and have used mainly soy based formulas in the lactose free group, changing simultaneously the carbohydrate and the protein, which makes difficult to isolate the effect of avoiding lactose (13,14,15,16,17,18,19,20,21,22,23,24,25,26). The goal of this randomized controlled trial was to determine whether the routine use of a lactose free formula containing cow's milk protein (AL-110, Nestle Labs.) in hospitalized children aged one to 24 mo reduces the duration of AD, when compared with a lactose formula.

METHODS

During the months of October of 1989 to July of 1990 we studied a group of children aged one to 24 mo inclusive, hospitalized in the Clinica Infantil Colsubsidio, a tertiary social security center located in Bogota, Colombia. All subjects were admitted due to dehydration secondary to AD (defined as four or more watery stools in a period of 24 h, with a total duration less than or equal to one week (7), that in most cases had not been corrected with oral rehydration therapy. Subjects were excluded if they were receiving more than 50% of their daily milk as breast milk or were not receiving lactose milk/formula prior to illness, if they had diarrhoea caused by *E. histolytica*, if they had received antibiotic therapy during a 48 h period prior to admission, if they had history of chronic malabsorption syndrome, or if their parents refused to take part in the trial. The study protocol was approved by the Research Committees of both the Javeriana University and the Colsubsidio Children's Clinic. Written informed consent was obtained from all parents.

Eligible patients received the same rehydration therapy, first with parenteral fluids and later with oral electrolyte solution. Parenteral solutions included Ringer's lactate in case of shock (30 ml/kg in 30 min to 60 min followed by 70 ml/kg in five hours), and a solution of 5% dextrose with 50 mmol/L of sodium and 20 mmol/L of potassium for less severe cases or for maintenance. The oral solution used was that recommended by the WHO (7), usually started within four to six hours after admission. After rehydration subjects were stratified according to age (one to six months inclusive, and seven to 24 months) and to nutritional state (normal and abnormal, where normal was a weight/height index >91%) (27) and then allocated to intervention or control group within their

strata using block randomization.

Feeding was started within 12 hours after admission. The lactose free group received AL-110 (Nestle Lab.). The lactose formula for children under six months of age was NAN 1 (Nestle Lab.), which is similar to human milk and for older children it was NAN 2, that is similar to cow's milk (Table 1). All children received the day one prescribed formula in half strength concentration to provide at least 50% of the calculated fluid requirements for 24 h. The concentration was normal from day two on. Food different to milk, the same for both groups, was reintroduced after the first day. Therefore, children were receiving full feedings within 24 h to 26 h after admission. Since the appearance, odour and taste of the lactose free formula were very different from those of lactose formulas, the study did not have a blinded manoeuvre.

TABLE 1
COMPOSITION OF THE FORMULAS USED

	Without Lactose AL-110	With Lactose NAN1	NAN2
Protein source	Casein	Casein	Casein
Protein (gm/1)	19	16	33
Fat source	Corn	Cow's milk	Cow's milk
Fat (gm/l)	33	34	33
Carbohydrate	Glucose polys.	Lactose	Lactose
Lactose (gm/1)	0.00	74	71
Cal/ml	0.66	0.66	0.66

The primary outcome measure was the total duration of diarrhoea from the moment of reintroduction of formula. One day of diarrhoea was defined as the presence of four or more watery stools during a 24 h period. The duration was also measured as the total number of hours up to the last liquid evacuation. The reappearance of watery stools after a period of normal evacuations of seven days or less was considered part of the same episode; otherwise it was considered as a second episode. Both the proportion of failures during the reintroduction of food and the change of corporal weight during the first six weeks were secondary outcomes. Failure was defined as the persistence of diarrhoea for more than seven days after the reintroduction of food, an increment of more than 50% in the number of stools/24 h following refeeding, when compared with the number during the previous 24 h, and/or the persistence of vomiting/refusal with the administration of milk/formula in two consecutive opportunities after a second six hours period of fasting. Failures were not excluded for measuring the total duration of the disease. The corporal weight gain was the difference between the body weight obtained after six weeks and the observed after the period of rehydration, measured with the same instrument. The outcomes were evaluated by nursing personnel who did

not have knowledge about the treatment received by each subject.

Patients were discharged from hospital when they were receiving the formula in normal concentration and after at least one day without diarrhoea. Follow-up visits were scheduled at one, three and six weeks, when data about food tolerance, number and consistency of evacuations, problems with the administration of milk/formula and corporal weight were collected. Parents were instructed to bring the empty cans of milk to these visits to evaluate compliance with the formulas used. A consumption equal to or higher than 80% of the formula was considered as good compliance. After three weeks patients allocated to lactose free formula returned to the lactose regimen they were using prior to illness. In case of recurrence of diarrhoea during this change, the patient was maintained with lactose free regimen for one more week, when the change was tried again.

During August/89 17 eligible patients participated in a pilot study that showed that the mean duration of diarrhoea after admission was 2.0 d (SD=1.1 d). A difference equal to or larger than one day between the two treatment groups was considered clinically important. Assuming 10% of drop-outs, a sample size of 21 subjects/group was needed ($\alpha=0.05$, two tailed test; power=80%). The baseline comparability of the treatment groups was assessed according to the demographic and medical data collected at admission. Discrete variables were compared using X² or Fisher exact test, and continuous variables with Student t test. Since the duration of AD measured in days was not normally distributed, the Mann-Whitney test was used.

RESULTS

During the study period 59 eligible children were admitted to hospital. Two of these subjects were not included due to parental refusal to participate. Fifty seven patients were randomized, 29 and 28 to the lactose free and the lactose groups, respectively. Two children allocated to lactose formula were later excluded because their disease was secondary to *E. histolytica*, found in their faeces after randomization but before starting the study diets. One patient on the lactose group was excluded due to referral to another hospital due to economical reasons, and two additional patients, one from each group, dropped out after leaving the clinic. Since complete information regarding the duration of diarrhoea and body weight could not be obtained from the two children that dropped out, they were excluded for the analysis of these variables, but they were included in the failures count. The baseline characteristics of children excluded were not different to those found in the 52 subjects finally included. The baseline characteristics of the groups are summarized on Table 2. No differences were found between the group except for the mean duration of diarrhoea before admission (3.5 d and 2.3 d for lactose free and lactose groups, respectively; $p=0.01$).

TABLE 2
FEATURES OF THE TREATMENT GROUPS ON
ADMISSION^a

Feature	Lactose free	Lactose
Total in group	28	24
Age (mo)	13.1(5.8)	11.6(4.6)
Male	18(64)	13(54)
Body weight after rehydration (kg)	8.8(2.4)	8.5(1.8)
ORT during current illness	24(86)	19(79)
History of breast feeding	26(93)	20(83)
Duration of breast feeding (mo)	5.1(3.8)	5.0(5.6)
Days of diarrhoea before admission	3.5(2.0)	2.3(1.0) ^b
Number of stools last 24 h	7.2(3.8)	7.1(3.4)
Heart rate on admission	125(12.2)	122(8.8)
Serum sodium (mmol/l)	139(7.4)	140(6.2)
Serum creatinine (μ mol/l)	62(27)	62(27)
Estimated degree of dehydration		
Mild (4-5%)	13(46)	16(67)
Moderate (6-9%)	15(54)	7(30)
Severe(>9%)	—	1(3)
Estimated nutritional status		
Normal	16(57)	18(75)
Mild malnutrition	10(36)	4(17)
Moderate malnutrition	2(7)	2(8)
Highest maternal education		
Elementary	9(32)	6(25)
High school	14(50)	10(42)
University	5(18)	8(33)
Number of house bedrooms		
One	4(15)	2(8)
Two	14(52)	13(54)
Three or more	9(33)	9(38)
Pathogens identified in stools		
<i>Proteus sp.</i>	11	13
<i>C. freundii</i>	9	7
<i>Klebsiella sp.</i>	3	3
<i>Y. enterocolytica</i>	1	-
<i>Enterobacter sp.</i>	1	-
Rotavirus	11/20	14/20

a Values in parentheses are SD or percentages in each group

b $p=0.01$

TABLE 3
FINAL OUTCOME MEASURES ON THE
TREATMENT GROUPS^a

Outcome measure	Lactose	Lactose free	P
Median duration of diarrhoea (d)	0(0-3)	0(0-5)	.717
Mean duration of diarrhoea (h)	41.9(32)	54.5(40)	.247
Body weight increment (kg)			
All third visit attendants	.80(.5)	.82(.5)	.918
Mean time follow up (d)	43.1(3.5)	43.2(3.6)	.945
Therapeutic failures	1/29(3.4)	2/25(8.0)	.584

a Values in parentheses are SD or percentages, except for the median duration of diarrhoea in days, were they are range.

Table 3 summarizes the results on the dependent variables. The median number of days of diarrhoea after the reintroduction of food was zero for both groups, with a range of zero to three on the lactose free group, and of zero to five on the lactose group ($p=.717$, Mann-Whitney test). Although there was a tendency to a reduction in the mean duration of the disease in hours in the lactose free group, this difference was not statistically significant ($p=.247$, t test). Twenty six (93%) patients from the lactose free group and 22 (92%) from the lactose group attended the third follow up appointment. No differences were found on the body weight increment up to this visit ($p=.918$, t test). The mean time between the onset of the study regimen and this follow up visit was almost the same for both groups. There was one treatment failure in the lactose free group, due to persistent refusal of the patient to the formula, and two in the lactose group, due to increment in the number of stools of more than 50% after the reintroduction of milk. This difference was not statistically significant ($p=.584$, Fisher exact test).

In order to determine whether the difference in the duration of the disease before admission between the treatment groups could have modified the results, the relationship of this variable with the outcome measures was explored. The correlation coefficients with the duration of diarrhoea after food reintroduction (both in days and hours), and the body weight increment were $-.06$, $-.14$ and $-.13$, respectively ($p>0.05$). Thus, the baseline difference between the groups seems to have had no relation with the final results.

No complications or complaints were found during the administration of the study formulas. Parents' compliance with the treatments was considered adequate in all subjects that completed the follow up. All children allocated to the lactose free formula were given lactose formula after three weeks without recurrence of the illness.

DISCUSSION

At least 14 randomized trials comparing lactose and lactose free regimens during diarrhoea in children have been published since 1968 (13-26). As expected, there is great variability in the characteristics of these studies. Although 10 studies (15,20,21,25) included only inpatients, the severity of the disease seems to differ significantly among them. Most trials evaluated only one diet in the lactose free group; however, three studies (18,23,26) used two formulas without lactose and two more (20,22) three lactose free regimens. Ten studies assessed soy based formulas in the lactose free groups (13-18,20,23-25), two used food mixtures free of milk (19,21), and one cow's milk treated with lactase (26). Five studies measured the mean number of days with diarrhoea as an outcome (15,16,18,19,21), while three more measured this length in hours (13,24,26); only one of these trials found statistically significant differences in the duration of the disease between the treatments (13). Significant differences in the proportion of failures during refeeding were found in three out of nine studies that measured this outcome (13,14,17).

All children studied by us had AD lasting up to seven days, and were receiving lactose formula until the illness onset. This feature differs from that in several previous papers, that do not give information about the duration of illness in their patients (13,14,19,21,22). As mentioned in the methods, we excluded children that had received antibiotics during a 48 hour period prior to admission because the long use of these drugs can produce diarrhoea, and those receiving more than 50% of their daily milk as breast milk (containing lactose) because the interruption of breast feeding during the study period in the subjects allocated to the lactose free group was considered inconvenient, both for ethical and practical reasons (28).

In general, previous trials that have reported differences seem to have included sicker patients. For this reason we decided to study only inpatients, who are expected to be sicker than those treated as outpatients. All subjects included in this trial were dehydrated on admission, despite that most of them had received ambulatory care with oral rehydration therapy before admission. However, most cases had mild or moderate dehydration, with only one patient considered severely dehydrated. Although there were no cases with severe malnutrition, more than a third of the studied children were undernourished. It is necessary to point out that the study population included a reduced proportion of infants under six months of age, who may have more severe diarrhoea. This is due to the organization of the social security system in Bogota, that offers hospital care for children under one year at lower cost in other health facilities. All this means that our study population did not have enough number of children of the highest risk groups for lactose intolerance (i.e those under six mo of age, with severe dehydration and with severe malnutrition), which can limit the generalizability of the results in some extent. However, our findings will be applicable

to children at social security institutions whose general conditions are similar to those described in our population.

Table 2 shows that the study groups had similar baseline characteristics of all variables but for the duration of illness before admission. As it was shown, this difference did not have statistical association with the variables used as outcome measures. Several of the pathogens identified in stools are not generally considered enteric pathogens capable of causing diarrhoea; these data are provided to allow a better description of our subjects, and to compare the baseline characteristics of the study groups. Unfortunately, more precise typification of *E. coli* and cultures for *Campylobacter* could not be carried out.

As previously mentioned, most studies conducted up to date have used soy formulas in the lactose free group, which means that experimental intervention was different to the control both in the carbohydrate and in the protein source. This makes difficult to interpret the results of such studies. One reason we had to use AL-110 was that the protein content in this formula is similar to that in whole milk, which allows to rule out cointervention due to the simultaneous change in two ingredients of the formula. We believe that this constitutes a strength of our trial. Only the study conducted by Rajah (22) has evaluated this same formula as alternative for the routine withdrawal of lactose in children with AD. However, the lactose free treatment in Rajah's study included two more formulas, one of them soy-based, which makes difficult to isolate the effect of AL-110 and to compare our results with those reported in such study. On the other hand, it is necessary to emphasize that the milk formulas were offered at half strength during the first day, and that they were only one component of a mixed diet. These two facts may have diluted the effects of the lactose load in the evaluation, therefore reducing the possibility of finding differences between the study interventions. However, the intervention used may replicate closer the usual clinical practice, in which formula is not the only food provided to children with diarrhoea.

All subjects allocated to the control group in our study received formulas whose lactose concentration are similar to those found in human and cow's milk. It was necessary to use two formulas in this group in order to follow the usual clinical practices, according to which infants under six mo of age receive a product similar to breast milk while older children are given whole milk. This feature is different to the procedures followed in most previous studies, that have used the same lactose formula despite the age of the subjects included. In addition, it is necessary to mention that the study conducted by Leake et al (14) used a formula with a lactose content 50% higher than that of cow's milk in the control group during the first 48 h of refeeding, and as result it is impossible to say if the statistically significant increase in the proportion of failures over the lactose free group could be explained by this non conventional procedure, or whether it would have been the same using regular formula.

No secondary reactions were reported in the study subjects, although some children allocated to the lactose free regimen seemed to perceive the different milk taste, secondary to the carbohydrate change. The formula was well tolerated for all patients. The study patient's compliance with the treatments was adequate, which rules out that the lack of differences on the results was due to no use of the experimental therapy in the group of patients allocated to this regimen. The very good compliance with the treatments observed in the study may be explained, at least partially, because the tolerance to the formula was known before discharging the patient, and because both lactose and lactose free formulas were provided to patients without cost during the study.

Although the main dependent variable in our study was the duration of diarrhoea after the reintroduction of food, we used the proportion of therapeutic failures as secondary outcome. Additionally, we decided to assess the change in the body weight during the period of use of the study intervention. These outcomes were evaluated by blind raters, which reduces the possibility of bias during the measurement. Although there was a tendency to a shorter duration of diarrhoea in the group receiving the lactose free formula when compared with the lactose group, this difference did not reach statistical significance at the 0.05 level. No differences were found on the secondary outcomes either. It might be argued that the use of clinical variables to compare two diets could have contributed to the negative findings of our trial, and that it would have been of greater interest to monitor more «sensitive» variables, such as stool outputs during selected intervals of therapy. However, our study has demonstrated that there are no differences regarding clinical important outcomes. Should differences in stool output exist, their clinical meaning would be at most marginal.

Any trial that compares two treatments and that finds no differences must evaluate the probability of a Type II error, according to which the study can not demonstrate a true and significant difference between the therapies due to a reduced sample size (29). The results of a pilot study conducted before starting the trial were used to estimate the number of subjects required to find a difference in the duration of the disease of at least one day, with a power of 80%. In accordance with the final results, the study power to find a 50% reduction (27 h) in the duration of diarrhoea after the reintroduction of food was 71%, slightly below the originally fixed. Using the data obtained in the control group, 35 subjects/group and 149 subjects/group would be required to demonstrate a 50% and a 25% reduction in the duration of the disease, respectively (alpha 0.05, power 80%). Similarly, the sample size required to show a reduction of 50% in the proportion of therapeutic failures found in accordance to the rate observed in the control group of this study would be much greater (519 subjects/group).

In conclusion, we think our study population was representative of the children under two years of age hospitalized due to AD in social security centres of Bogota,

and probably from other cities. However, the study sample included few infants under the age of six mo, and did not have severe malnourished subjects. Although the group of children receiving the lactose free regimen had a small reduction in the mean duration of the disease measured in hours after the reintroduction of food, this difference was not statistically significant. We could not find significant differences between the study groups regarding the median duration of the disease in days, the mean corporal weight increment, or the proportion of therapeutic failures either. Although the study power was slightly below the desired level, our findings suggest that the routine use a lactose free formula in hospitalized children has little effect, if any, over the course of this illness.

ACKNOWLEDGMENTS

We are grateful to the directorship and the personnel from the Clinica Infantil Colsubsidio, especially to the study coordinator, Ms. Fabiola Joya, and to those that participated in the accrual of the study data. We are also grateful to Ms. Maria N. Rodriguez, who performed the study randomization.

REFERENCES

- Snyder JD, Merson MH. The magnitude of the global problem of acute diarrheal disease; a review of active surveillance data. *Bull WHO* 60:605-613, 1982.
- Black RE, Brown KH, Becker S, et al. Longitudinal studies of infectious diseases and physical growth of children in rural Bangladesh: I. Patterns of morbidity. *Am J Epidemiol*, 115:305-314, 1982.
- Black RE, Brown KH, Becker S, et al. Longitudinal studies of infectious diseases and physical growth of children in rural Bangladesh: II. Incidence of diarrhea and association with known pathogens. *Am J Epidemiol*, 115:315-324, 1982.
- Black RE, Brown KH, Becker S. Effects of diarrhea associated with specific enteropathogens on the growth of children in rural Bangladesh. *Pediatrics*, 73: 799-805, 1984.
- Wharton a, Pugh RE, Taitz LS, Walker-Smith JA, Booth IW. Dietary management of gastroenteritis in Britain. *BR Med J*, 296:450-452, 1988.
- Madkour AA. Feeding during and after diarrhea. In: *Maternal and child care in developing countries*. Kessel E, Awan AK, eds. Switzerland: Ott Publishers, 1989, p.221-233.
- Anonymous. A manual for the treatment of diarrhoea. For use by physicians and other senior health workers, WHO/CDD/SER80. 2 Rev 2, 1990.
- Brown KH, Black RE, Parry L. The effects of diarrhea on incidence of lactose malabsorption among Bangladeshi children. *Am J Clin Nutr*, 33:2226-2227, 1980.
- Hyams JS, Krause PJ, Geason PA. Lactose malabsorption following rotavirus infection in young children. *J Pediatr*, 99:916-918, 1981.
- Davidson GP, Goodwing D, Robb TA. Incidence and duration of lactose malabsorption in children hospitalized with acute enteritis; study in a well nourished urban population. *J Pediatr*, 105:587-590, 1984.
- Davidson GP, Goodwing D, Robb TA. Incidence and duration of lactose malabsorption in children hospitalized with acute enteritis; study in a well nourished urban population. *J Pediatr*, 105:587-590, 1984.
- Trounce JQ, Wlaker-Smith JA. Sugar intolerance complicating acute gastroenteritis. *Arch Dis Child*, 60:986-990, 1985.
- Sutton RE, Hamilton JR. Tolerance of young children with severe gastroenteritis to dietary lactose: a controlled study. *Can Med Assoc J*, 99:980-982, 1968.
- Leake RD, Schroeder KC, Benton DA, Oh W. Soy based formula in the treatment of infantile diarrhea. *Am J Dis Child*, 127:374-376, 1974.
- Gabr M, Maraghi S, Morsi S. Management of lactose intolerance secondary to acute diarrhea with a soy based lactose free formula. *Clin Therap*. 2:271-276, 1979.
- Noah MA. Soy based formula for infantile diarrhea: a controlled trial. *Nig Med J*, 9:243-245, 1979.
- Naidoo BT, Chunterpurshad I, Mahyoodeen ABG, Pather G. The use of a soy isolate based formula in the treatment of infantile diarrhoea. *J Int Med Res*, 9:232-235, 1981.
- Bard-el-Din A, Kassem AS, Hussein ZM. Feeding during acute diarrhea. *Gazz Egyp Paediatr Assoc*, 31:89-93, 1983.
- Isoulari E, Vesikari T, Saha P, Viander M. Milk versus no milk in rapid refeeding after acute gastroenteritis. *J Ped Gastroen Nutr*, 5:254-261.
- Groothuis JR, Berman S, Chapman J. Effect of carbohydrate ingested on outcome in infants with mild gastroenteritis. *J Pediatr*, 108:903-906., 1986.
- Bhan MK, Arora NK, Klosch B, Raj P, Sazawal S, Sharma K. Comparison of a lactose-free cereal based formula and cow's milk in infants and children with acute gastroenteritis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 7:208-213, 1988.
- Rajah R. The effect of feeding four different formulas on stool weights in prolonged dehydrating infantile gastroenteritis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 7:203-207, 1988.
- Conway SP, Ireson A. Acute gastroenteritis in well nourished infants: comparison of four feeding regimens. *Arch Dis Child*, 64:87-91, 1989.
- Haffejee IE. Cow's milk/soy based formula, human milk and soya feeds in acute infantile diarrhea: a therapeutic trial. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 10:193-198, 1990.
- Margolis PA, Litterer T, et al. Effects of unrestricted diet on mild infantile diarrhea. A practice based study. *Am J Dis Child*, 144:162-164, 1990.
- Brown KH, Pérez F, Gastañaduy AS. Clinical trial of modified whole milk, lactose hydrolyzed whole milk, or cereal-milk mixtures for the dietary management of acute childhood diarrhea. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 12:340-350, 1991.
- Waterlow JC. Classification and definition of protein calorie malnutrition. *Br Med J*, 3:566-569, 1972.
- Khin-Maung-U, Nyunt-Nyunt-W, Myo-Khin, Mu-Mu-Khin, Tin-U, Thane-Toe. Effect of clinical outcome of breast feeding during acute diarrhoea. *Br Med J*, 290:587-9, 1985.
- Sackett DL, Haynes RB, Tugwell P. *Clinical Epidemiology. A basic science for clinical medicine*. Boston: Little, Brown and Company, 1985.

Recibido: 12-08-1993

Aceptado: 27-09-1993

Efecto de diferentes niveles de almidón y fibra dietética de preparaciones sobre el consumo inmediato y subsecuente de preescolares de 24 a 48 meses de edad

Héctor Araya¹, Gloria Vera¹, Marcela Alviña¹, Andrés Fuentes², M. Teresa Oyarzun³ y Nelly Pak¹

Universidad de Chile.

RESUMEN. El estudio tiene como propósito examinar en preescolares el efecto de diferentes niveles de almidón y fibra dietética en un tiempo de comida sobre el consumo de alimentos y de energía inmediato (en el mismo tiempo de comida) y en la comida siguiente (consumo subsecuente). El trabajo se realizó en 50 niños de 24 a 48 meses, de ambos sexos, y con estado nutricional normal de acuerdo al índice peso/talla utilizando los estándares antropométricos del NCHS. Los consumos de alimentos en ambos tiempos de comida se realizaron por pesada diferencial entre lo ofrecido y lo dejado por el niño. El aporte de energía se determinó a partir de los resultados del análisis químico proximal. En el almuerzo se proporcionaron preparaciones tipo sopa crema que variaban en su nivel de almidón y de fibra dietética y tenían una similar densidad energética. Los resultados del consumo inmediato demostraron que los dos tratamientos dietéticos fueron significativos y tendieron a disminuir el consumo a media que se aumentaban los niveles tanto de almidón como de fibra dietética. Se evidenció una interacción significativa entre ambas variables. En el consumo subsecuente tanto de alimentos como de energía, se evidenció la misma tendencia que en el consumo inmediato. No hubo interacción entre las variables. El valor inferior de energía lo presentaron los niños que consumieron en el almuerzo la preparación con altas concentraciones de almidón y fibra dietética. Al combinar los resultados de los consumos inmediatos y subsecuentes se demuestra la misma tendencia significativa de ambos tratamientos dietéticos. Los hallazgos presentados son los primeros que se comunican para el efecto de diferentes niveles de almidón y fibra dietética sobre el consumo inmediato y subsecuente en preescolares. Una probable explicación de los resultados obtenidos es el menor vaciamiento gástrico que se induce por el consumo de altas cantidades de almidón y fibra dietética y en el caso específico del almidón, por su respuesta glicémica. Los resultados del presente trabajo se puede proyectar hacia el establecimiento de normas dietéticas para el preescolar menor y para aquellos con riesgo de desnutrición o sobrenutrición.

SUMMARY. Effect of different starch and dietary fiber levels on food an energy intake of one meal and subsequent meal in preschool children. The aim of this study was to examine in preschool children the effects of different levels of starch and dietary fiber of a meal time on the immediate food and energy intake (in the same meal time) and in the following meal (subsequent intake). The study was performed in 50 children both genders, with ages ranging from 24 to 48 months, with normal nutritional status (weight/height index) according to the NCHS standards. The food intake was determined by differential weighing and energy intake was calculated from proximal analysis. In the lunch, several meals were offered differing in their starch and dietary fiber but with similar energy density (1 kcal/g). The results of the immediate consumption demonstrated that the two dietary treatments were significantly and the effect was a lower consumption of food and energy, while the starch and dietary fiber levels increased. It was observed and interaction between both variables. The subsequent food and energy intake showed the same tendency that was observed in the immediate consumption but there was not an interaction between both variables. The lowest value of intake was showed by the children who consumed the meal with the highest level of starch and dietary fiber. When results of both meal times were combined, the same effects were demonstrated. The findings described have been not reported by others authors. A probable explanation for these results are the lower gastric emptying caused by high levels of starch and dietary fiber and in the specific case of starch by its glycemic index. The findings of the present work can be applied to establish rationale dietary recommendations for normal preschool feeding and for those at risk of under and overnutrition. Key words: preschool children, energy intake, starch, dietary fiber.

1 Universidad de Chile, Facultad de Medicina, Departamento de Nutrición.

2 Alumno de Nutrición y Dietética, Universidad de Chile.

3 Ingeniero en Alimentos.

INTRODUCCION

El estudio de la alimentación del preescolar es de naturaleza compleja debido a que estos niños tienen una capacidad gástrica menor, están desarrollando sus habilidades para comer, consolidando sus hábitos alimentarios e integrándose al consumo de la dieta familiar (1).

Diversos estudios han demostrado que el consumo de preparaciones o dietas con alto contenido de cereales y tubérculos produce una disminución de la ingesta energética, aún si la disponibilidad de alimentos es adecuada (2-6). Los argumentos esgrimidos para explicar el efecto de estas dietas sobre la ingesta de preescolares, refieren a su alta consistencia (7), baja densidad energética (6) o bien a ambos factores presentes en forma simultánea (4). Alviña y cols. (8) demostraron que preparaciones tipo sopa de arveja-arroz, formuladas con diferente densidad energética y consistencia, fueron consumidas en forma similar por preescolares. Estos resultados sugieren que los factores dietéticos densidad energética y consistencia -al menos en los niveles utilizados en dicho estudio- no tuvieron efecto sobre el consumo de los niños. Los autores postulan que el almidón pudiese ser el factor dietético condicionante de esta menor ingesta. Araya y cols. (9,10) observaron que preparaciones con mayor densidad energética y consistencia eran consumidas en menor cantidad por preescolares. Estas preparaciones tenían una alta concentración de almidón, sin embargo, en estos estudios el almidón no era la única variable dietética de tipo independiente.

Prácticamente todos los estudios de consumo realizados en preescolares se relacionan con el consumo inmediato. En consecuencia, no existe información del efecto de variables dietéticas de una comida sobre el consumo de alimentos y de energía en la comida subsecuente. En adultos existen estudios de este tipo, siendo los resultados controvertidos debido a la diversidad de los diseños dietéticos y al estado nutricional de los sujetos (11-13). En todo caso sería imposible extrapolar los resultados obtenidos en adultos al preescolar, por las características alimentarias específicas y complejas de este grupo etario.

Con respecto al efecto de la fibra dietética sobre el consumo, no existen estudios en preescolares. En adultos, los trabajos demuestran que una mayor ingesta de fibra dietética tiende a disminuir al consumo energético (14,15).

Los antecedentes expuestos justifican la realización, de estudios en preescolares acerca del efecto del almidón y la fibra dietética sobre el consumo. Estos compuestos frecuentemente se encuentran en alta concentración en la dieta de preescolares de bajo nivel socioeconómico.

MATERIAL Y METODOS

El estudio se realizó en 50 preescolares de ambos sexos con estado nutricional normal de acuerdo a los estándares antropométricos del NCHS (16). El diseño dietético se mues-

tra en la Tabla 1 donde se describen las características de las preparaciones estudiadas en relación con su nivel de almidón y fibra dietética. Las preparaciones estaban compuestas por arroz extruido, frijol extruido y avena soluble. Se diseñaron las formulaciones de sopa descritas en la Tabla 1 con tres niveles de almidón: bajo, medio y alto con una concentración en promedio de: 4.1 g, 6.6 g y 8 g de almidón por 100 g de fórmula respectivamente. Los niveles de fibra dietética utilizados fueron en promedio de 0.11 g, 0.77 g y 1.27 g de fibra dietética por 100 g de fórmula para el nivel bajo, medio y alto respectivamente. Para disminuir, cuando era necesario, los niveles de almidón se utilizó una hidrólisis enzimática, empleando harina de malta, como agente dextrinizante. Las preparaciones se ofrecieron en el almuerzo estimulado, pero no obligando su consumo. Se ofreció repetición si el niño lo solicitaba. El consumo se determinó por pesada diferencial entre la cantidad ofrecida y la dejada por el niño. Se realizaron 1.355 observaciones en el consumo inmediato y 1.048 para el subsecuente.

TABLA 1
DESCRIPCION DE LAS FORMULACIONES
ENSAYADAS

Fórmula	Alimento Base	Condición	Hidrólisis
I	Frijol Extruido	Media en almidón Alta en fibra	Intermedia
II	Frijol Extruido	Baja en almidón Alta en fibra	Máxima
III	Avena	Media en almidón Media en fibra	Intermedia
IV	Avena	Baja en almidón Media en fibra	Máxima
V	Arroz Extruido	Media en almidón Baja en fibra	Intermedia
VI	Arroz Extruido	Baja en almidón Baja en fibra	Máxima
VII	Avena/Frijol Extruido	Alta en almidón Alta en fibra	Mínima
VIII	Arroz Extr./Frijol Extruido	Alta en almidón Media en fibra	Sin hidrol.
IX	Arroz Extruido	Alta en almidón Baja en fibra	Sin hidrol.

La comida subsecuente consistió en leche con saborizante y azúcar (densidad energética: 0.76 kcal/g), y pan con margarina (densidad energética: 4.23 kcal/g). Esta comida fue ofrecida una hora después del almuerzo. Se cuidó que los niños no

consumieran ningún alimento durante el intervalo entre los dos tiempos de comida. Se estimuló, pero no se obligó a los niños para que los consumieran. La determinación de consumo se realizó por pesada diferencial en igual forma que para la determinación del consumo inmediato.

Las muestras de alimentos fueron llevadas al laboratorio donde se les efectuó el análisis químico proximal según AOAC (17). En las preparaciones del almuerzo se determinó almidón según Chrastil (18) y fibra dietética según Lee y cols. (19).

El análisis estadístico se efectuó por análisis de varianza en dos direcciones, test de Tukey y análisis por celda si existía interacción entre las variables independientes (20).

RESULTADOS

Los resultados del efecto de diferentes niveles de almidón y fibra dietética sobre la ingesta de la primera comida (consumo inmediato) de los niños se ilustra en la Tabla 2. Se evidenció un efecto significativo de las variables dietéticas estudiadas y una interacción de éstas. A medida que se incrementó el nivel, tanto de almidón como de fibra dietética, el consumo inmediato tendió a disminuir. Si bien este efecto fue significativo para el tratamiento total, al considerar situaciones específicas, se verificó que no se manifestaba cuando se varió los niveles de almidón en las preparaciones altas en fibra dietética o se incrementó la fibra dietética en las preparaciones con niveles altos de almidón.

TABLA 2
CONSUMO INMEDIATO (g) DE LAS
FORMULACIONES EN LOS PREESCOLARES DE
24 A 48 MESES DE EDAD

		Nivel de Almidón		
		Bajo	Medio	Alto
Nivel de Fibra	Bajo	VI 307.0±53.1	V 328.8±50.3	IX 259.0±59.8
	Medio	IV 264.0±65.6	III 310.2±61.7	VIII 258.8±53.0
	Alto	II 275.1±65.9	I 263.1±60.5	VII 266.8±60.4

Valores promedios ± desviación estándar

ANOVA (dos direcciones):

Efecto del almidón: $p < 0.001$

Efecto de la fibra: $p < 0.001$

Interacción almidón x fibra: $p < 0.001$

Análisis por celda:

VI vs. IV $p < 0.001$ IX vs. VIII N.S. IV vs. III $p < 0.001$

VI vs. II $p < 0.001$ IX vs. VII N.S. IV vs. VIII N.S.

IV vs. II N.S. VIII vs. VII N.S. III vs. VIII $p < 0.01$

V vs. III $p < 0.006$ VI vs. V $p < 0.002$ II vs. I N.S.

V vs. I $p < 0.001$ VI vs. IX $p < 0.001$ II vs. VII N.S.

III vs. I $p < 0.001$ V vs. IX $p < 0.001$ I vs. VII N.S.

En la Tabla 3 se muestra el consumo de la comida subsecuente. Se observó un efecto significativo de los tratamientos dietéticos sin existir una interacción entre estos. La tendencia observada fue una disminución del consumo cuando se incrementó tanto el nivel de almidón como el de fibra dietética.

TABLA 3
EFECTOS DE INGESTA DE LAS FORMULACIONES
ENSAYADAS SOBRE EL CONSUMO DE LA COMIDA
SUBSECUENTE (g) EN LOS PREESCOLARES DE 24 A
48 MESES

		Nivel de Almidón		
		Bajo	Medio	Alto
Nivel de Fibra	Bajo	VI 276.1±35.1	V 273.9±63.4	IX 257.6±74.5
	Medio	IV 266.5±54.6	III 257.9±50.4	VIII 244.7±78.0
	Alto	II 253.2±54.8	I 274.4±46.2	VII 238.2±61.3

Valores promedios ± desviación estándar

ANOVA (dos direcciones):

Efecto del almidón: $p < 0.001$

Efecto de la fibra: $p < 0.003$

Interacción almidón x fibra: N.S.

Test de Tukey:

Efecto del almidón: nivel alto vs. bajo y medio $p < 0.05$

Efecto de la fibra: nivel bajo vs. medio y alto $p < 0.05$

La ingesta energética de la comida subsecuente se describe en la Tabla 4. Existió un efecto de los dos tratamientos dietéticos y una interacción entre ambos. La tendencia observada fue más consistente al examinar el efecto de la fibra dietética, donde se apreció una disminución de la ingesta energética cuando los niveles de fibra dietética de la comida eran superiores.

TABLA 4
EFECTOS DE LA INGESTA DE LAS FORMULACIONES ENSAYADAS SOBRE EL CONSUMO DE ENERGIA DE LA COMIDA SUBSECUENTE (kcal) EN PREESCOLARES DE 24 A 48 MESES DE EDAD

		Nivel de Almidón		
		Bajo	Medio	Alto
		VI	V	IX
Nivel de Fibra	Bajo	257.8±70.2	266.7±90.0	254.2±90.4
	Medio	259.7±83.7	241.8±82.6	247.5±95.0
	Alto	234.7±62.4	269.1±70.4	210.2±61.2

Valores promedios± desviación estándar

ANOVA (dos direcciones):

Efecto del almidón: $p < 0.003$

Efecto de la fibra: $p < 0.005$

Interacción almidón x fibra: $p < 0.001$

Análisis por celda:

VI vs. IV N.S.	IX vs. VIII N.S.	IV vs. III N.S.
VI vs. II $p < 0.005$	IX vs. VII < 0.001	IV vs. VIII N.S.
IV vs. II $p < 0.03$	VIII vs. VII $p < 0.004$	III vs. VIII N.S.
V vs. III $p < 0.01$	VI vs. V N.S.	II vs. I $p < 0.008$
V vs. I N.S.	VI vs. IX N.S.	II vs. VII $p < 0.05$
III vs. I $p < 0.02$	V vs. IX N.S.	I vs. VII $p < 0.001$

En la Tabla 5 se describen los resultados para el consumo energético de los dos tiempos de comida, considerados en conjunto. Se verificó que los dos tratamientos dietéticos tuvieron un efecto significativo con una tendencia clara a la disminución cuando aumentaban los niveles de almidón o de fibra dietética. No hubo interacción entre estas dos variables.

TABLA 5
EFECTOS DE LA INGESTA DE LAS FORMULACIONES ENSAYADAS SOBRE EL CONSUMO TOTAL DE ENERGIA (ALMUERZO Y MERIENDA) EN LOS PREESCOLARES DE 24 A 48 MESES DE EDAD

		Nivel de Almidón		
		Bajo	Medio	Alto
		VI	V	IX
Nivel de Fibra	Bajo	666.9±75.7	682.7±94.5	629.4±103.7
	Medio	651.9±93.5	653.8±89.2	623.4±107.2
	Alto	638.4±76.3	660.6±97.7	601.5±75.7

Valores promedios± desviación estándar

ANOVA (dos direcciones):

Efecto del almidón: $p < 0.001$

Efecto de la fibra: $p < 0.001$

Interacción almidón x fibra: N.S.

Test de Tukey:

Efecto del almidón: nivel alto vs. bajo y medio $p < 0.05$

Efecto de la fibra: nivel bajo vs. alto, $p < 0.05$

DISCUSION

Los resultados informados para el consumo inmediato demuestran que en las condiciones de este estudio, el incremento de los niveles de almidón o de fibra dietética de preparaciones tipo sopa, disminuyen el consumo inmediato por parte de preescolares de 24 a 48 meses. Resultados preliminares han sido comunicados por Araya y cols. (21) quienes demostraron un efecto similar del almidón de preparaciones con bajo contenido de fibra dietética en preescolares de 24 a 36 meses.

El efecto descrito se puede explicar por el menor vaciamiento gástrico inducido por estos compuestos (22) y en consecuencia por un desarrollo más rápido de la sensación de saciedad (23). Es necesario destacar que las preparaciones tenían la misma densidad energética (1.0 kcal/g) y similar concentración de proteínas, de manera de evitar el efecto modulador de estas variables sobre el consumo inmediato. Un hecho interesante es que el aumento de una variable no indujo una disminución del consumo inmediato si la otra variable se encontraba en un alto nivel. Esta interacción está demostrando que los efectos no son aditivos y por lo tanto los mecanismos son independientes.

La ingesta de la comida subsecuente (consumo a corto plazo) mostró una tendencia similar al consumo inmediato. Se verificó una disminución significativa del consumo de alimentos en cada tratamiento dietético y no se evidenció la interacción que se manifestaba en el consumo inmediato: El consumo subsecuente disminuyó por el cambio de niveles de una variable aunque la otra estuviese alta en forma constante. Se puede apreciar que la ingesta más baja tuvo lugar cuando los niños consumieron en la comida anterior la preparación con más alto contenido en almidón y fibra dietética. Los hallazgos encontrados se pueden explicar por un menor vaciamiento gástrico producido por el consumo de almidón o de fibra dietética (22), es decir, por hidratos de carbono complejos. En el caso específico del almidón, otro argumento que sustenta a la observación empírica de consumo es que su ingesta se manifiesta en una curva glicémica con niveles moderados de glicemia, pero sustentables en el tiempo (23).

La demostración que los preescolares pueden responder en el consumo subsecuente a la manipulación dietética de almidón y fibra dietética en la comida anterior es un hallazgo no comunicado por otros autores. La literatura científica no informa de trabajos realizados en preescolares acerca de la acción de variables dietéticas de un tiempo de comida sobre el consumo de alimentos y energía en las comidas subsecuente. Existen estudios realizados en adultos y sus resultados son controvertidos, producto de diseños experimentales disímiles; por otra parte, el preescolar por su capacidad gástrica menor a la del adulto, puede ser más sensible a los cambios dietéticos que ocurren en una comida (1).

La ingesta energética de la comida subsecuente siguió la misma tendencia que el consumo de alimentos y por lo tanto se puede afirmar que el incremento de los niveles de almidón y fibra dietética producen un menor consumo energético, tanto inmediato como subsecuente. En consecuencia, este hecho está demostrando que estos compuestos impiden una compensación energética: la brecha calórica del consumo inmediato no se pudo disminuir en la once y por el contrario se acrecentó. Esta respuesta es más claramente evidenciable al expresar en forma conjunta la ingesta energética de los dos tiempos de comida. Estos resultados están demostrando que el vaciamiento gástrico menor y en el caso del almidón la curva glicémica, están limitando la capacidad de ingesta de alimentos y de energía en la comida subsecuente aún cuando los volúmenes consumidos y la cantidad de energía ingeridas en la comida anterior fueron menores.

Los resultados comentados tienen proyecciones conceptuales y aplicadas en la alimentación del preescolar. Desde la perspectiva conceptual, los hallazgos descritos son los primeros que demuestran en niños preescolares el efecto de diversos niveles de almidón y de fibra dietética de una preparación, sobre el consumo inmediato y subsecuente. El hecho de tener efecto sobre la comida subsecuente tiene un impacto negativo sobre la capacidad del niño para compensar un menor consu-

mo previo, ya sea por una oferta menor o bien por el consumo alto de estos compuestos. Estos resultados son un aporte al estudio del efecto de macronutrientes y de fibra dietética sobre la capacidad de consumo de los niños. Es importante enfatizar que estas observaciones se deben limitar al diseño dietético empleado en el presente trabajo y es necesario continuar con los estudios sobre compensación energética y efecto de macronutrientes empleando diseños más variados que reflejen el complejo problema de la alimentación del preescolar.

Desde la perspectiva de aplicación se deben contemplar dos situaciones opuestas. Por un lado los problemas de desnutrición que afectan a grandes sectores de la población preescolar de los países en desarrollo. Se conoce que estos niños consumen dietas con alta proporción de alimentos básicos que tienen niveles altos de almidón y frecuentemente de fibra dietética. En este sentido, el consumo monótono de este tipo de dietas sería una causa del escaso consumo energético observado en estos niños, suponiendo, en el mejor de los casos, que la disponibilidad de alimentos sea adecuada. Por otra parte, estas dietas frecuentemente son del tipo voluminoso en que coexiste una alta consistencia y una baja densidad energética de sus preparaciones (4,6). Este último argumento es el que ha sido esgrimido hasta ahora y en el presente trabajo se aportan nuevos antecedentes para interpretar la etiología dietética de la desnutrición. En síntesis el consumo de este tipo de dietas es inadecuado para aquellos niños en riesgo de desnutrición y es un argumento relevante para mejorar la alimentación de los programas y de la educación alimentaria dirigida a las familias de bajos ingresos.

Desde la perspectiva de las poblaciones con riesgo de sobrenutrición, el análisis tiene que cambiar su dirección en forma diametral. En este tipo de poblaciones se debería incentivar un mayor consumo de alimentos básicos con el propósito de disminuir la ingesta energética. Por otra parte, el consumo de estos alimentos disminuye en el largo plazo los riesgos de aterosclerosis y diabetes (24).

La menor ingesta de alimentos de preescolares que consumen dietas con altos niveles de almidón y fibra dietética tiene una importancia fundamental en la ingesta de otros nutrientes. Como el consumo de alimentos es menor, necesariamente la calidad nutricional en vitaminas y minerales se debe mejorar, lo que constituye un desafío para los expertos en alimentación y en seguridad alimentaria.

El estudio del efecto del almidón y la fibra dietética sobre el consumo de alimentos de preescolares abre interesantes posibilidades para establecer normas alimentarias racionales para la alimentación del preescolar normal. Más allá, permite realizar modificaciones dietéticas tendientes a disminuir los riesgos de desnutrición y sobrepeso u obesidad de la población.

REFERENCIAS

1. Manual de alimentación del preescolar. Ed. Araya H., Vera G., Alviña M. 2ª Ed. Santiago, Chile, 1991.
2. Nicol BM. Protein and calorie concentration. *Nutr. Rev.* 29:83, 1971.
3. Scrimshaw NS. WO Atwater Memorial Lecture. Through a glass darkly: discerning the practical implications of human dietary protein energy interrelationships. *Nutr Rev* 53:321. 1977.
4. Rutishauser IHE., Frood JDL. The effect of a traditional low fat diet on energy and protein intake, serum albumin concentration and body-weight in Ugandan preschool children. *Brit J Nutr* 29:261. 1973.
5. Payne PR. Safe protein-calorie rations in diets. The relative importance of protein and energy intake as causal factors in malnutrition. *Am J Clin Nutr* 28:281. 1975.
6. Araya H., Arroyave G. Relación del contenido energético proveniente de grasas y proteínas como indicador de la potencialidad energético - proteínica de las dietas de poblaciones. *Arch Latinoamer Nutr* 29:103. 1979.
7. Hellstrom A., Hermansson AN., Karlsson A., Ljungqvist B., Mellander O. Dietary bulk as a limiting factor for nutrient intake with special reference to the feeding of preschool children. II Consistency as related to dietary bulk. A model study. *J Trop Ped* 27:127. 1981.
8. Alviña M., Vera G., Pak N., Araya H. Effect of addition of malt flour to extruded pea-rice preparations on food and energy intake by preschool children. *Ecol Food Nutr* 24:189. 1990.
9. Araya H., Alviña M. Vera G., Araya J. Pak N. consumo de preparaciones con diferentes atributos nutricionales y texturales por preescolares de 2 a 3 años. *Rev Chil Nutr* 17:182. 1989.
10. Araya H., Vera G., Pak N. Effect of dietary energy density on food intake of preschool children in one meal. *Nutr Rep Int* 28:309. 1983.
11. Barkeling B., Rossner S., Bjornell. Effects of a high protein meal (meat) and high carbohydrate meal (vegetarian) on satiety measured by automated computerized monitoring of subsequent food intake, motivation to eat and food preferences. *Int J Obes* 14:743. 1990.
12. Sepple CP, Read NW. Effect of prefeeding lipid on food intake and satiety in man. *Gut* 31:158. 1990.
13. Rolls BJ, Hetherington M., Burley VJ. The specificity of satiety: the influence of foods of different macronutrient content on the development of satiety. *Physiol Behav* 43:145. 1988.
14. Burley VJ., Leeds AR., Blundell JE. The effect of high and low fibre breakfast on hunger satiety and food intake in a subsequent meal. *Int J Obes* 11, Suppl 1:87. 1987.
15. Blundell JE., Burley VJ. Satiety, satiety and the action of fibre on food intake. *Int J Obes* 11, Suppl 1:9. 1987.
16. U.S. Department of Health Education and Welfare, NCHS, Growth curves of children: birth-18 years. United States, Hyattsville, Md: Public Health Service. National Center for Health Statistics (Vital and Health Statistics, Series 11, number 165). 1977.
17. Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis of the AOAC. 13th ed. Washington DC. 1980.
19. Chrastil J. Protein-starch interactions in rice grains. Influence and insoluble dietary fiber in foods - Enzymatic Gravimetric method, Mes-Tris buffer: Collaborative study. *J of AOAC Internat* 75:395. 1992.
20. Snedecor GN. Cochran WG. Statistical methods. Ames, Iowa University Press. 1972.
21. Araya H. Vera G., Alviña M., Pak N. Efecto del almidón de preparaciones sobre el consumo inmediato y subsecuente en preescolares de 2 años. *Rev Chil Nutr* 1993. Aceptado para su publicación.
22. Hunt JN, Smith JL, Jiang CL. Effect of meal volume and energy density on the gastric emptying of carbohydrates. *Gastroenterology* 89:326. 1985.
23. Kissileff HR., Van Itallie IB. Physiology of the control of food intake. *Ann Rev Nutr* 89:371. 1982.
24. Anderson JW. Bryant C. Dietary fiber: diabetes and obesity. *Am J Gastroent* 81:898. 1986.

Recibido: 05-04-1993

Aceptado: 06-01-1994

Effect of addition of brewer's yeast to soy protein and casein on plasma cholesterol levels of rabbits

Jorge De Abreu¹ and Nancy Millán²

Simón Bolívar University, Cellular Biology Department. Caracas, Venezuela.

SUMMARY. The purpose of this study was to determine whether the addition of high levels of yeast to casein and soy diets could modify the well known effects of any of these proteins on plasma cholesterol. Rabbits, were fed either a diet containing soybean protein-brewer's yeast or casein-brewer's yeast (each protein source providing 50 percent of the dietary nitrogen content) and casein and soybean protein basal diets. Brewer's yeast was obtained from a local beer factory in its non-debittered form. The diets contained 20 percent protein, 9 percent coconut oil and 1 percent corn oil, with no added cholesterol. After a 22 day experimental period, rabbits fed casein developed hypercholesterolemia whereas those fed the soybean protein diet did not. The replacement of 50 percent of the soy nitrogen by brewer's yeast nitrogen, increased the total cholesterol plasma level, but significant differences were only observed between rabbits fed casein and casein-yeast and those fed soybean protein. No differences in high density lipoprotein cholesterol could be detected among the groups. However, the HDL-cholesterol/total cholesterol ratio was significantly reduced in response to soy substitution by brewer's yeast. The (low density lipoprotein + very low density lipoprotein) - cholesterol was increased in all groups with the exception of the animals fed purely soy protein. These data suggest a hypercholesterolemic activity of the dietary non-debittered brewer's yeast. Nevertheless, according to the amino acid composition, the factor responsible for the reported effects of dietary yeast was not associated with a high lysine to arginine ratio which could be due to extracellular components.

RESUMEN. Niveles de colesterol plasmático en conejos alimentados con dietas de soya y caseína enriquecidas con levadura de cerveza. El objetivo del presente trabajo fue determinar si altos niveles de levadura de cerveza modifican los efectos de la caseína y de la proteína de soya sobre el colesterol plasmático. Se alimentaron 4 grupos de conejos, 6 animales por grupo, con dietas que contenían mezclas de proteína de soya-levadura o caseína-levadura (cada fuente proteica aportando el 50 por ciento del nitrógeno dietario) y con las dietas control basadas en proteína de soya o caseína. La levadura se obtuvo de una planta local de fabricación de cerveza sin tratamiento previo de eliminación del amargor. Las dietas contenían 20 por ciento de proteína, 9 por ciento de aceite de coco y 1 por ciento de aceite de maíz y no contenían colesterol. Después de 22 días de tratamiento, los conejos alimentados con la dieta de caseína desarrollaron hipercolesterolemia comparados con los que consumieron la dieta basada en proteína de soya. La sustitución del 50 por ciento del nitrógeno en la dieta de soya por levadura de cerveza, incrementó el nivel plasmático del colesterol total aunque las diferencias no fueron significativas. Sólo se alcanzó significancia estadística entre las dietas que contenían caseína y caseína-levadura, comparadas con la dieta que contenía únicamente proteína de soya. No se observaron diferencias en el colesterol de las lipoproteínas de alta densidad entre los grupos. Sin embargo, la razón HDL-colesterol/colesterol total disminuyó significativamente en respuesta a la sustitución de la proteína de soya por levadura. El colesterol de las lipoproteínas de baja densidad + las lipoproteínas de muy baja densidad se incrementó en los grupos, excepto en el grupo que consumió únicamente proteína de soya. Estos datos sugieren un efecto hipercolesterolémico de la levadura dietaria no tratada. Sin embargo, de acuerdo a la composición de aminoácidos, el factor responsable de la actividad aquí observada en la levadura, no estuvo asociado a una razón lisina/arginina alta y posiblemente componentes extracelulares causaron estos efectos.

-
1. Graduate student of Biological Sciences Program, Simón Bolívar University
 2. Associate Professor, Cellular Biology Department of the same university. P.O. Box. 89000, Caracas, Venezuela.

INTRODUCTION

If rabbits or rats are fed animal proteins such as casein, they develop significantly higher levels of cholesterolemia than animals fed plant proteins, especially soybean protein (1).

The several theories proposed in an attempt to explain the possible mechanisms involved in the control of cholesterolemia by dietary protein have been recently reviewed (2). There is evidence that the role of dietary protein in the regulation of cholesterol metabolism is partially associated with their amino acid composition. Kritchevsky suggested that animal proteins such as casein with a high lysine to arginine ratio, increase the plasma cholesterol, whereas plant proteins, such as soybean with a low lys to arg ratio, reduced it (3). Van der Meer has proposed that the differential phosphorylation state of the casein and soybean protein can explain the inhibition of the intestinal steroid absorption in animals fed soybean protein when compared with those fed diets containing casein (4). This author proposed that casein phosphopeptides dissolves the calcium phosphate sediment in the intestine making the phosphate soluble. Consequently, bile acids and neutral steroids are re-absorbed and so, plasma cholesterol concentration is increased in animals fed casein.

On the other hand, single cell proteins have a potential use as an alternative protein source of good quality in poultry (5) and human (6,7) nutrition. For example, a protein concentrate from distillery yeast was used to supplement corn tortillas, a basic food in Central America and Mexico, showing a 60 percent increase of the protein content and a significant improvement in lysine content (8). Likewise, we demonstrated in chickens that whole cells of yeast *Saccharomyces carlsbergensis* from beer brewing, could be substituted by 50 percent of soy protein (9).

Several studies have demonstrated the hypocholesterolemic effect of microorganisms on man and animals. Phototrophic bacteria lowered the serum cholesterol in rats (10). Mycoprotein (11,12) and brewer's yeast (13,14) decreased serum cholesterol in humans. Recently a nicotinamide riboside, isolated from brewer's yeast extracts, has been identified as an inhibitory substance *in vitro* of 3-hidroxy-3 methyl glutaryl-coenzyme A reductase activity in rat liver preparations (15). Nevertheless, in these studies the microorganisms were added as dietary supplements and they were not an important source of protein in the diet. Little data is available on the effects of microbial proteins upon cholesterol metabolism where they significantly contribute to dietary protein contents. Since the concentrates or isolates, made principally from *Torula* or *Saccharomyces* yeasts, are potentially useful in the improvement of high consumption foods, it is necessary to evaluate the influence of high levels of microbial proteins up on lipid metabolism.

Therefore, the aim of the present study was to determine the effects on plasma cholesterol levels by substituting 50 percent of the dietary proteins, such as casein or soy protein, with brewer's yeast, an economical and abundant by-product of the Venezuelan beer industry.

MATERIALS AND METHODS

Animals and diets

Twenty-four young hybrid New Zealand-California rabbits (provided by Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas) were housed individually in wire-bottom cages and maintained in a controlled environment at 20-22°C and with a 12 h light: dark cycle. During the acclimation period, the rabbits received a pelleted commercial rabbit chow (Protinal, Caracas) until they weighed nearly 2200 g. Then, they were fed ground chow diet for a seven-day period. At this point a first baseline blood sample was taken after which the animals were assigned by selective randomization to four groups, six animals per group with test diets mixed with ground chow, reducing progressively the latter until, by day seven, they were fed only test. The amount of feed was 70g per day and water was freely provided for the 22-d feeding period. Animals were weighed weekly.

The protein sources were free vitamin casein (Teklad, Madison, USA), soy isolated protein (Ralston Purina, Missouri, USA) and flakes of brewer's yeast collected from the roll dryer of a brewery (Polar Industries, Caracas). The chemical composition of the brewer's yeast flakes was determined by us (9).

In a previous study which we carried out with chickens, it was determined that the de-bittering process reduced the nutritive value of the yeast (16). Consequently, in this study, brewer's yeast without any treatment was used. The composition of the basal diets was identical to that described by West *et al* (17). The yeast diets were based on mixtures made with yeast and either soy protein or casein, providing a half nitrogen. All diets were isocaloric and they were formulated so as to contain 20 percent protein by weight and 10 percent fat, 9 percent from coconut oil and 1 percent from corn oil. Table 1 shows the composition of the experimental diets. The lysine to arginine ratio was calculated for each diet from the previously determined amino acid composition data of soy protein and yeast (9) and from data reported for casein (18).

TABLE 1
DIETS COMPOSITION

	Casein	Casein:Yeast g/Kg diet	Soy	Soy:Yeast
Casein	240	121	—	—
Soy	—	—	233	117
Brewer's yeast	—	264	—	264
Corn starch	334	188	333	188
Methionine	2	2	2	2
Constant				
components ^a	426	426	426	426
Lys/Arg ^b	2.2	1.26	0.7	0.8

a. According to West *et al* (17)

b. Calculated from amino acid composition data as was indicated in Materials and Methods.

Analytical procedures

At the beginning of the trial and after 22-d of treatment, animals were fasted for 14 h and blood was drawn from the marginal ear vein into plastic tubes containing EDTA as anticoagulant. The blood was centrifuged at low speed for 10 minutes at room temperature to obtain plasma. Samples were analyzed by enzymatic colorimetric procedures for total lipids, triglycerides, total cholesterol and high density lipoprotein-cholesterol using commercial kits (Heiga, Caracas). Plasma values were determined using standard curves obtained by analyzing several concentrations of standards provided with the respective kits. The difference between total cholesterol and HDL-cholesterol was assumed to be cholesterol associated with VLDL+LDL.

Data were statistically analyzed using Duncan's multiple range test (19) and significant differences between initial and final plasma lipids were tested by student's «t» test (20). The level of statistical significance was pre-set at $p < 0.05$.

RESULTS

Table 1 shows that the growth of the rabbits was not affected by inclusion of brewer's yeast into the diet. Lipid data are listed in Table 2. Total plasma lipids increased significantly in all group after 22 d of feeding as compared with initial values, although the rabbits fed purely soy protein had the lowest final value. No differences in plasma triglycerides could be detected among the groups during the trial as observed in Table 2. Rabbits fed the casein diet exhibited a much higher plasma cholesterol level than those on the soy diet. Addition of brewer's yeast to soy diet tended to increase plasma cholesterol level, though the differences were not statistically significant ($P < 0.05$). HDL-cholesterol did not change in the groups but HDL-cholesterol/total cholesterol ratio decreased significantly in the casein or yeast diet groups, but not in the soy-fed group. (LDL + VLDL)-cholesterol showed a similar pattern to the one observed in total cholesterol content, indicating that the increase of plasma cholesterol was associated with these lipoprotein particles.

TABLE 2
EFFECT OF DIETARY CASEIN, CASEIN: YEAST, SOY PROTEIN AND SOY PROTEIN: YEAST
ON BODY WEIGHT GAIN AND PLASMA LIPIDS IN RABBITS ¹

	DIET			
	Casein	Casein:Yeast	Soy	Soy:Yeast
Body weight gain (g/22 d)	154±92 ^a	271±53 ^a	206±63 ^a	271±58 ^a
Plasma (mg/100 ml)				
Total Lipids	961±166*	932±187 ^a	514±166 ^{b*}	668±57 ^{a*}
Triglycerides	136±32 ^a	89±20 ^a	160±37 ^a	89±21 ^a
Total cholesterol	405±89 ^a	394±83 ^{a*}	136±21 ^b	333±54 ^{ab*}
HDL cholesterol	52±6 ^a	57±3 ^a	49±6 ^a	55±6 ^a
LDL + VLDL chol	353±92 ^{a*}	337±78 ^{a*}	87±24 ^{b*}	278±45 ^{ab*}
HDL-chol/Total chol	0.16±0.04 ^{a*}	0.18±0.04 ^{a*}	0.41±0.07 ^b	0.18±0.03 ^{a*}

¹ Values are means ± SE of six rabbits per group

a,b means bearing different letters in the same row are significantly different ($p < 0.05$) according to Duncan multiple range test.

* Different from initial value according to "t" test.

DISCUSSION

In developing countries it is necessary to have additional and economical protein sources to increase nutritional value of high-consumption food and feed. In this regard, microbial proteins, particularly from yeast, seem to have the greatest potential. Yeast has a relatively well-balanced amino acid composition, except for the sulfur-containing amino acids (21). However, for man, the protein supply from yeast is low because it is preferably used at low concentrations as a source

of group B vitamins. Only some vegetarian groups commonly consume higher levels of yeast as a dietary protein supplement.

Since protein concentrates from yeast have potential usefulness in human nutrition and the role of the dietary protein upon the plasma cholesterol control is known (1), it is important to examine the long-term changes which could take place on plasma lipids in response to significant dietary levels of these proteins. For this reason, in this study we compared the effect of the replacement of 50 percent of the two most studied proteins, casein and soybean protein, by brewer's

yeast protein. Growth data of rabbits further confirm our previous findings that the substitution of 50 percent of dietary protein by brewer's yeast, maintains an adequate supply of amino acids without any side effects (15).

As would be expected, dietary casein increased plasma cholesterol when compared with dietary soy protein. The plasma lipid data, however, indicate that the inclusion of brewer's yeast in replacement of 50 percent of soy protein raised the total cholesterol and the (LDL+VLDL) cholesterol and lowered the HDL-cholesterol/total cholesterol ratio. On the other hand, the replacement of 50 percent of the casein by brewer's yeast did not cause any change in these parameters as compared with the group fed purely casein. Since the level of cholesterol in lipoprotein fractions has been shown to be a good indicator of the atherosclerosis risk in rabbits (22), the results of this study suggest that brewer's yeast tended to overcome the hypocholesterolemic effect of soy protein and did not change the hypercholesterolemic effect caused by casein consumption.

Nevertheless, the examination of the lysine to arginine ratio of the diets (Table 1), indicated that the addition of yeast to a soy protein diet did not significantly change the amino acid ratio despite the fact that it raised the plasma cholesterol. In contrast, the inclusion of yeast to casein diet, lowered the lysine to arginine ratio by 43 percent, without affecting the plasma cholesterol as compared to the casein diet. Therefore, the factor by which brewer's yeast developed its action was not associated with a high lysine to arginine ratio. Thus, these results are not in agreement with the atherogenic role of the lysine to arginine ratio as was suggested by Kritchesky (3).

On the other hand, we previously reported that the phosphorous content of the brewer's yeast in its non de-bittered and de-bittered form was 1.5 and 0.6 percent, respectively, and 0.7 percent in the soybean protein (16). So, it could be possible that the hypercholesterolemic effect shown here in response to non de-bittered yeast intake, was associated with the phosphate groups bound to insoluble hop resin. Such phosphate groups could have a similar role to that proposed by Van der Meer for casein-phosphopeptides and could explain the re-absorption of fecal steroids and bile acids in casein fed animals(4).

Taking into account that the brewer's yeast was not de-bittered, the effect observed here is not necessarily caused by yeast cells; it may also have resulted from extracellular components such as insoluble hop resins or from an interaction within the saturated dietary fat, based principally on coconut oil, and the brewer's yeast protein. Since the hypercholesterolemic effects presented here are hitherto unknown for yeast, both possibilities need further investigation in order to contribute to the establishment consumption criteria.

In summary, whatever the mechanism may be, the results presented in this work seem to suggest that the hypocholesterolemic effects reported by other authors for microbial proteins (10-14), could be modified by dietary factors.

ACKNOWLEDGMENTS

This study was supported by a grant from Decanato de Investigaciones y Desarrollo, Universidad Simón Bolívar. We wish to thank Drs. Marisol Castrillo and Diana Ajami for her important suggestions, Dr. Carlos Torrealba for his help during the preparation of the manuscript and Dr. Leopoldo Rodríguez (Polar Industries) who kindly supplied the brewer's yeast.

REFERENCES

1. Tersptra A., RJ. Hermus & C. West. The role of dietary protein in cholesterol metabolism. *Wld Rev Nutr Diet* 42: 1-55, 1983.
2. Beynen AC. Comparison of the mechanism proposed to explain the hypocholesterolemic effect of soybean protein versus casein in experimental animals. *J Nutr Sci Vitaminol* 36 (suppl):S87-S93, 1990.
3. Kritchevsky D. SA Tepper, SK Czarnecki & DM Klurfeld. Atherogenicity of animal and vegetable protein-influence of the lysine to arginine ratio. *Atherosclerosis*. 41:429-431, 1982
4. Van der Meer, R. Is the hypercholesterolemic effect of dietary casein related to its phosphorylation state?. *Atherosclerosis* 49:339-341, 1983.
5. Vananuvat P. Value of yeast protein for pultry feeds. *CRC. Critical Rev Food Sci Nutr* 8:325-343, 1977.
6. Bressani R. The use of yeast in human foods. In: Single -Cell Protein. RI Matels and SR Tannenbaum (Eds). Cambridge, Mass, The MIT Press, p. 90-121, 1968.
7. Garrido J. Proteínas en la alimentación humana. *Química* 2000. 4:45-49, 1986.
8. Arriola MC, M de Zepeda & C Rolz. A protein concentrate from distillery yeast, and its application to supplement corn tortillas. *Arch Latinoamer Nutr* 39:565-575, 1989.
9. Póo ME & N Millán. Efecto de la concentración dietaria de la levadura (*Saccharomyces carlsbergensis*) recuperada de la cerveza, en pollos macho Warren. *Arch Latinoamer Nutr* 39:95-106, 1990.
10. Lee MG., M. Kobayashi & K. Yasumoto. Hypocholesterolemic effect of phototrophic bacterial celled in rats. *J Nutr Sci Vitaminol* 36:475-483, 1990.
11. Turnbull WH, AR Leeds & GD Edwards. Effect of mycoprotein on blood lipids. *Am J Clin Nutr*. 52:646-650, 1990.
12. Turnbull WH, AR Leed & GD Edwards. Mycoprotein reduces blood lipids in free-living subjects. *Am J Clin Nutr*. 55:415-419, 1992.
13. Offenbacher EC, CJ Rinko & FX Pi-Sunyer. The effects of inorganic chromium and brewer's yeast on glucose tolerance, plasma lipids and plasma chromium in elderly subjects. *Am J Clin Nutr* 42:454:461, 1985.
14. Elwood JC, DT Nash & DHP Streeton. Effect of high-chromium brewer's yeast on human serum lipids. *J Am Coll Nutr*. 1:263-274, 1982.
15. Holdsworth ES, DV Kaufman & E Neville. A fraction derived from brewer's yeast inhibits cholesterol synthesis by rat liver preparations in vitro. *Brit J Nutr* 65:285-299, 1991.
16. Póo ME & N Millán. Efecto del lavado de la levadura recuperada de la cerveza sobre su valor nutritivo para pollos. *Acta Científica Venezolana* 38:130-132, 1987.

17. West CE, AC Beynen, KE Scholz, AHM Terpstra, JB Schutte, K Deuring & LGM Van Gils. Treatment of dietary casein with formaldehyde reduces its hypercholesterolemic effect in rabbits. *J Nutr* 144:17-25, 1984
18. Meinertz H, O Faergeman, K Nilausen, MJ Chapman, S Goldstein & PM Laplaud. Effects of soy protein and casein in low cholesterol diets on plasma lipoproteins in normolipidemic subjects. *Atherosclerosis* 72:63-70, 1988.
19. Duncan DB. Multiple range and multiple F test. *Biometric* 11:1-6, 1955.
20. Snedecor GW & WG Cochran. *Statistical Methods*. The Iowa State University Press. Ames, Iowa, 593 pp. 1967.
21. Martini AEV, MW Miller & a Martini. Amino acid composition of whole cells of different yeasts. *J Agri Food Chem* 27:982-984, 1979.
22. Bratsand R. Distribution of cholesterol and triglycerides among lipoprotein fractions in fat-fed rabbits at different levels of serum cholesterol. *Atherosclerosis*, 23:97-110, 1976.

Recibido: 02-08-1993

Aceptado: 14-12-1993

Propiedades de malta diastásica de sorgo blanco

Helbert David Almeida Domínguez¹ y Lloyd William Rooney²

RESUMEN. Las enzimas de malta diastásica tienen potencial para hidrolizar almidones pregelatinizados liberando azúcares solubles, disminuyendo la viscosidad de mezclas y permitiendo el uso de altas concentraciones de nutrimentos para la preparación de cremas, alimento para infantes y bebidas formuladas con base de cereal. Así, es fundamental determinar la capacidad de la malta de sorgo para desarrollar propiedades funcionales deseables como viscosidad, solubilidad en agua y calidad nutrimental. En este trabajo se monitorearon las características de un sorgo blanco durante la germinación y la malta resultante. Se hizo germinar sorgo blanco «Dorado» a 28°C y 95% HR durante 6 días en completa oscuridad y después se secó a 55°C y se pulverizó para obtener harina de malta diastásica. Se determinaron las características fisicoquímicas, químicas, nutrimentales y diastásicas de la malta así como su capacidad para licuar mezclas de harinas precocidas rehidratadas. La máxima actividad diastásica ocurrió a los 3-4 días de germinación. La pérdida de materia seca del grano ocurrida durante la germinación aumentó a razón de 2.7 unidades porcentuales por día. Los períodos de germinación prolongados resultaron en mayores pérdidas de materia seca y menores niveles de actividad diastásica. El índice de solubilidad en agua del sorgo aumentó linealmente durante los primeros 5 días de germinación debido probablemente a la producción de azúcares solubles y aminoácidos libres. Los valores de digestibilidad *in vitro* de proteína (78.7 g/100 g proteína), el contenido de lisina (3 g/100 g de proteína) y el C-PER (1.0) del sorgo aumentaron durante la germinación. La malta de sorgo fue capaz de licuar mezclas precocidas y rehidratadas (20% de sólidos) en 5 min. de mezclado a 30°C. La malta con máxima actividad diastásica es útil para licuar pastas o bebidas de cereal precocido permitiendo aumentar el contenido de sólidos totales y la densidad de nutrimentos mientras se conservan las propiedades líquidas del producto. La calidad proteica mejorada de la malta de sorgo es favorable para su uso en la formulación de alimentos con alta calidad nutrimental.

SUMMARY. Properties of white sorghum diastatic malt. Diastatic malt enzymes have potential to hydrolyze pregelatinized starches releasing soluble sugars, lowering viscosity of slurries and allowing the use of high nutrient densities for preparation of cereal-based creams, baby food and drinks. Determination of the extent in which sorghum malt is able to develop desirable functional properties such as viscosity, water solubility and nutritional quality is fundamental. In this work the characteristics of a white sorghum during germination and the resulting malt were evaluated. «Dorado» white sorghum was germinated at 28°C and 95% RH during 6 days in complete darkness, dried at 55°C and ground to produce diastatic malt flour. Physicochemical, chemical, diastatic and nutritional characteristics of malt and its ability to liquify precooked flour slurries were determined. Maximum diastatic activity occurred at 3-4 days germination. Dry matter loss increased during germination at a rate of 2.7 percent units per day. Longer germination resulted in increased dry matter loss and decreased diastatic activity. Water solubility index of sorghum increased linearly during the first 5 days of germination probably caused by the production of soluble sugars and free amino acids. *In vitro* protein digestibility, lysine content and C-PER increased during germination. Sorghum malt was able to liquify precooked rice, wheat, oats or millet pastes (20% solids) in 5 min mixing at 30°C. Utilization of malts with maximum diastatic activity are useful to liquify precooked cereal pastes or drinks and to increase the total solid contents and nutrient density while keeping the liquid properties of the product. The improved protein quality of sorghum malt favours its utilization in high nutritional quality food formulations.

INTRODUCCION

La variedad y los parámetros de malteado son factores determinantes del rendimiento y la calidad de la malta de sorgo (1, 2, 3, 4, 5, 6). Ya se han reportado algunos procesos para el malteado de sorgo para su uso en cervecería y para la preparación de alimento para infantes y para animales (7, 8, 9, 10).

1 Centro de Graduados e Investigación, Instituto Tecnológico de Mérida, Km 5 Carretera Mérida-Progreso, Mérida. Yucatán 97118, México.

2 Cereal Quality Laboratory Soil & Crops Science Department, Texas A&M University, College Station, TX 77843 USA.

Los contenidos de proteína, aminoácidos libres, azúcares reductores y aminoácidos esenciales aumentan durante la germinación (11, 12) mientras que los taninos disminuyen (2, 5). La calidad de la malta puede ser evaluada mediante el índice de malta (método viscométrico) especialmente cuando esta será empleada en mezcla con almidones precocidos.

El malteado o la adición de malta diastásica (con capacidad de hidrolizar almidón) tiene un alto potencial para disminuir la viscosidad de mezclas rehidratadas de cereal precocido para consumo humano (10). Las enzimas de la malta pueden digerir los almidones pregelatinizados liberando azúcares solubles y rindiendo mezclas con alta densidad de nutrimentos. Es importante determinar en qué grado la malta de sorgo con máxima actividad diastásica puede desarrollar propiedades nutrimentales y funcionales deseables en alimentos tipo instantáneo formulados con base de cereal tales como alta calida proteica, fluidez o baja viscosidad y solubilidad en agua. Esto es particularmente necesario para contribuir al mejoramiento del estado nutricional de las comunidades en las que el sorgo es un grano básico. Los objetivos de este trabajo fueron elaborar malta diastásica de sorgo blanco, monitorear los cambios en las características fisicoquímicas, diastásicas y nutrimentales del sorgo durante la germinación, y evaluar la capacidad licuadora de la malta.

MATERIAL Y METODOS

Materia Prima

Se usaron granos de sorgo blanco «Dorado» (humedad de 11.6%, densidad de 1.358 g/cc y peso hectolítrico de 78.7 kg/hL) producidos en Halfway, Texas, como materia prima para las pruebas de germinación. Se usó harina comercial de malta de cebada con alta actividad diastásica (Malt Products Corporation, Maywood, New Jersey) para comparación. Para evaluar la capacidad de licuar de las maltas se usaron alimentos precocidos para infantes de arroz y de soya-trigo-avena (Gerber Products Co., Fremont, Minnesota) y alimentos precocidos por extrusión o hervido y hojueado de mijo perla decortinado (76% de rendimiento) preparados en el laboratorio (13).

Proceso de malteado

Los granos de sorgo fueron germinados siguiendo el proceso reportado por De Franca (14). Se pusieron a remojar 24 muestras de 150 g de grano limpio en agua fluyendo a 544 ml/min durante 20 hr a 26°C con un burbujeo continuo de aire. Los granos remojados se desinfectaron superficialmente por inmersión en una solución de hipoclorito de sodio al 2% por 15 min y fueron colocados en un germinador (Burrows, Burrows Equipment Co., Evanston, IL) durante 7 días a 28°C y 95% HR sin iluminación. Los granos germinados fueron secados a 50°C por 48 hr en un horno con flujo forzado de aire, frotados manualmente para separar las raíces y los tallos, y finalmente pulverizados en un molino UDY Cyclone Mill (UDY Co., Fort Collins, Colorado) a través de una malla de

1mm para obtener harina de malta diastásica.

Propiedades físicas y químicas

El color (L, a, b) fue medido con un colorímetro Hunterlab Tristimulus modelo D25-M-9 (placa estandar: L=+91.77, 1=1.07 y b=+1.36). La pérdida de materia seca fue calculada por diferencia entre el peso seco del grano crudo y el del grano germinado.

Los contenidos de humedad, grasa y ceniza fueron determinados con los métodos de la AACC (15). El contenido de proteína cruda (% N x 6.25) fue determinado mediante una digestión Kjeldahl (15) y un análisis de nitrógeno (16). Los contenidos de almidón total y almidón susceptible al ataque enzimático fueron calculados después de una digestión con glucoamilasa (Diazyme L-200, Miles Lab., Inc. Elkhart, IN) durante 30 min a 60° (17) y un análisis de glucosa (18).

Los índices de absorción de agua (IAA, g gel/g materia seca) y solubilidad en agua (ISA, g sólidos solubles secos/100g materia seca) fueron determinados por incubación de 1 g harina en 15 ml de agua destilada a temperatura ambiente durante 30 min con agitación (19).

Actividad de amilasas

La actividad de α -amilasa se determinó como índice de malta con un Visco Analizador Rápido modelo 3C (Newport Scientific Pty. Ltd, Sydney, Australia) siguiendo una modificación de un método de determinación de actividad diastásica de la AACC (15). Se graficó la viscosidad de muestras de 30 g (14.5% sólidos) formuladas con 95 partes de almidón de maíz y 5 partes de malta calentadas secuencialmente a 25°C por 2 min y a 95°C por 8 min. El pico de viscosidad (índice de malta) que apareció a los 5.5 min fue convertido a unidades de α -amilasas/g mediante una curva de calibración construida con malta diastásica de cebada con actividad de α -amilasas conocida.

Poder licuador de malta

El poder licuador de las harinas de malta fue evaluado en mezclas con arroz, trigo o mijo precocidos mediante la medición de la disminución de la viscosidad con el Visco Analizador Rápido. Las harinas, obtenidas con un molino UDY, fueron mezcladas con 5% (base seca) de malta y suficiente agua destilada para obtener 30 g de mezcla con 20% de sólidos. Los sólidos fueron adicionados al agua en el recipiente del analizador y mezclados manualmente con una espátula delgada por 30s para entonces ser analizados a 30°C durante 10 min. La viscosidad (cps) a los 5 min fue usada como indicador del poder licuador de la malta. La línea base fue establecida con 30 ml de agua destilada.

Calidad de proteína

Los aminoácidos fueron cuantificados mediante una hidrólisis ácida (20) y alcalina (para triptofano, 21) y un

análisis por intercambio iónico con un Analizador de Aminoácidos Beckman 121M. La digestibilidad proteica *in vitro* fue determinada con un sistema multienzimático (21). Los valores de C-PER fueron calculados a partir de los contenidos de aminoácidos y la digestibilidad de las proteínas (21).

Incineración húmeda y análisis de minerales

La incineración húmeda fue realizada mediante digestión de las muestras con ácido nítrico al 70.3% y después con ácido perclórico al 72%. Los contenidos de Ca y Fe de los hidrolizados fueron determinados por absorción atómica en un Espectrofotómetro Perkin Elmer 603 A/A (Perkin Elmer, Norwalk, CO). El fósforo inorgánico fue cuantificado por el método de Fiske y Subarow (23).

Diseño experimental y estadística

Para la evaluación del efecto del procesamiento sobre las propiedades de la malta resultante y del poder licuador de las maltas se usó análisis de varianza de una vía en un diseño experimental completamente aleatorio con 3 replicaciones. Para la comparación múltiple de promedio se usó el método de Diferencias Mínimas Significativas de Fisher (24). Se usó regresión polinomial simple para las curvas de calibración.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Propiedades físicas y químicas

Se obtuvo un alto grado de germinación alcanzando un 94-98% de los granos con raíces y tallos desarrollados al tercer día. Esto fue ventajoso comparado con otros sorgos altos y bajos en taninos que alcanzaron un 97-98% de germinación hasta el quinto día (2).

La humedad de los granos aumentó hasta 40% después del remojo y continuó aumentando linealmente ($r=0.99$) durante la germinación a razón de 1.73 unidades porcentuales por día (Figura 1). La pérdida de materia seca (PMS) aumentó linealmente ($r=0.95$) durante los primeros seis días de germinación a razón de 2.7 unidades porcentuales por día. El valor de PMS por día fue inferior a 3.4 obtenido por Okoh et al (5). El rápido incremento de PMS después del sexto día fue causado por el crecimiento de hongos. La utilización de tiempos óptimos de germinación es importante para obtener pérdidas mínimas de materia seca lo que significa mayores rendimientos de malta.

La malta de sorgo germinado por cuatro días resultó ser más blanca y con una composición química diferente que la malta de cebada (Tabla 1). Sus contenidos de proteína y ceniza fueron menores y los de almidón y grasa fueron mayores. Cerca del 18% del almidón del sorgo fue consumido durante los primeros 4 días de germinación probablemente para producir la energía necesaria para la actividad metabólica. Disminuciones de hasta 24% en el contenido de almidón han sido reportadas por Chavan et al (2).

FIGURA 1

Efecto del remojo y la germinación de sorgo sobre su contenido de humedad (LSD (.05) = 2.5) y su pérdida de materia seca (LSD (.05) = 2.4)

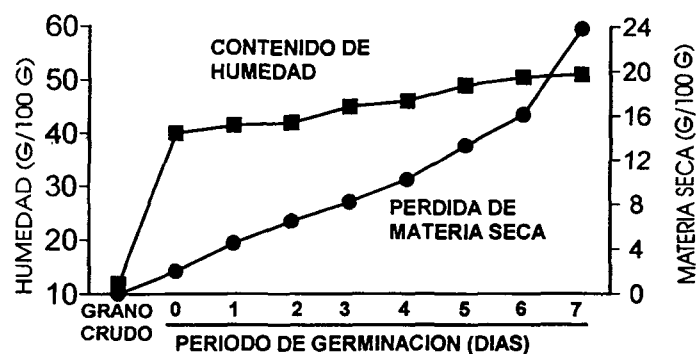


TABLA 1
EFECTO DE LA GERMINACION SOBRE EL COLOR Y LA COMPOSICION DE SORGO

Propiedad ^a	Sorgo crudo	Malta de sorgo ^b	Malta de cebada ^c	DMS ^d
Color				
L	80.9	81.5	77.5	0.3
a	0.4	-0.3	1.0	0.1
b	12.7	13.0	15.3	0.3
Proteína (% N x 6.25)	10.5	10.5	14.4	0.4
Ceniza	1.6	1.5	2.3	0.1
Almidón	79.1	71.9	55.9	1.6
Grasa	3.4	2.8	1.7	0.3

a La composición está dada en g/100g de materia seca.

b Sorgo germinado por 4 días, secado a 50°C y pulverizado.

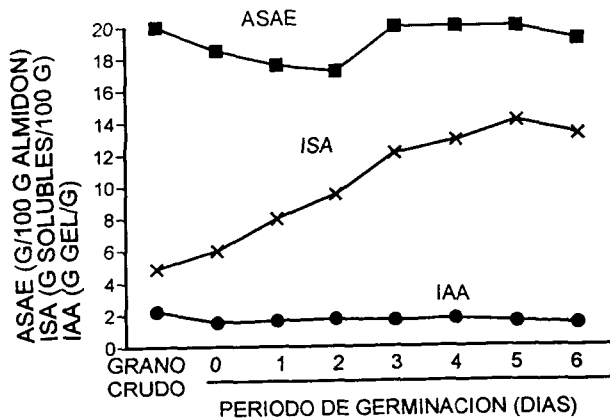
c Malta diastásica comercial de cebada

d Diferencia Mínima Significativa de Fisher al 5% de significancia.

El índice de solubilidad en agua aumentó linealmente ($r=0.99$) a razón de 1.68 unidades/día durante los primeros 5 días de germinación (Figura 2). Esto fue debido a la producción de azúcares reductores, aminoácidos libres y proteínas solubles durante la germinación (2,3). El índice de absorción de agua permaneció prácticamente inalterado durante la germinación. Así, la malta tiene potencial para dispersarse en agua a temperatura ambiente sin desarrollar un gel debido a su baja capacidad de absorber agua.

FIGURA 2

Efecto del remojo y la germinación de sorgo sobre su contenido de almidón susceptible al ataque enzimático (ASAE, LSD (.05) = 1.3) y sus índices de absorción (IAA, LSD (.05) = 0.1) y solubilidad (ISA, LSD (.05) = 1.0) en agua



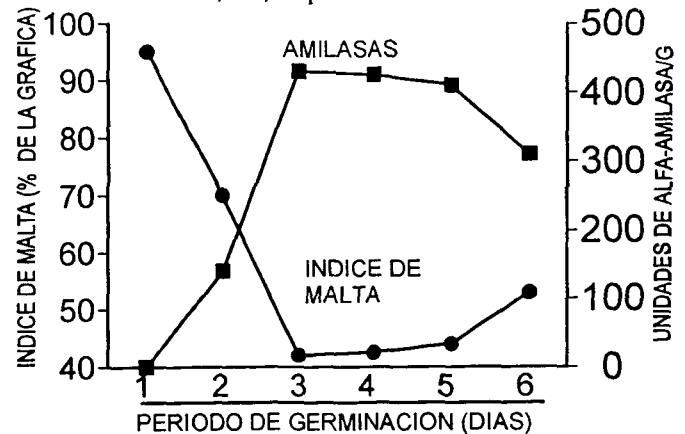
El contenido de almidón susceptible al ataque enzimático disminuyó durante el remojo y hasta el segundo día de germinación aumentando posteriormente (Figura 2). Aparentemente, el almidón fácil de digerir (almidón dañado, regiones amorfas de los granulos de almidón) en el grano crudo es metabolizado durante el remojo y las primeras etapas de la germinación para proveer la energía necesaria para la producción de enzimas y el crecimiento de la planta. Las enzimas producidas en mayor cantidad después del segundo día (1,3) degradan más almidón liberando azúcares reductores que a su vez son detectados como almidón susceptible al ataque enzimático. Esto es apoyado por el máximo contenido de almidón susceptible al ataque enzimático encontrado entre el cuarto y el quinto día de germinación cuando se observó una alta actividad de α -amilasas (Figura 3).

Actividad de amilasas

El máximo de actividad de α -amilasas ocurrió entre el tercero y el cuarto día de germinación mientras que, como era de esperarse, el valor del índice de malta fue mínimo en ese momento (Figura 3). Watson y Novellie (1) también han reportado actividades elevadas de maltosas y α - y β -amilasas al tercer día de germinación. El método viscométrico empleado detectó actividad de α -amilasas después del primer día de germinación. Esto es correcto ya que el desarrollo de α -amilasas en sorgo se inicia después del primer día y aumenta rápidamente después del segundo (3). La actividad de α -amilasas de la malta de sorgo germinado por 4 días fue 4.6 veces inferior a la de la malta diastásica comercial de cebada.

FIGURA 3

Efecto de la germinación de sorgo sobre su índice de malta (LSD (.05) = 2.3) y su contenido de actividad de alfa amilasas (LSD (.05) = 10.5). El índice de malta y la actividad de alfa amilasas de la malta de cebada fueron 9 y 1,019, respectivamente



Poder licuador de malta

Tanto la malta de sorgo como la de cebada redujeron significativamente la viscosidad de todas las mezclas de cereal precocido después de 5 min de mezclado a 30°C (Figura 4); sin embargo, la malta de cebada redujo las viscosidades más rápidamente y en mayor grado. Esto muestra el gran potencial que tienen las maltas con actividad enzimática para licuar mezclas de cereal precocido y rehidratado en la elaboración de alimentos fluidos con alta concentración de sólidos a temperatura ambiente y en corto tiempo.

Calidad de proteínas y composición de minerales

Tanto la digestibilidad *in vitro* de proteína y el C-PER del sorgo fueron incrementados durante la germinación (Tabla 2). El aumento significativo de la digestibilidad de las proteínas durante el remojo y las primeras etapas de la germinación es aparentemente causado por la hidrólisis de las proteínas de almacenamiento requerido para la producción de enzimas. El aumento del C-PER fue causado por el efecto combinado de los incrementos de digestibilidad proteica y el contenido de lisina (Tabla 3). También se observó un pequeño aumento en los contenidos de valina, isoleucina, tirosina y triptofano durante los primeros 4 días de germinación. La germinación mejora considerablemente la calidad proteica del sorgo mediante un aumento en los contenidos de los aminoácidos esenciales (11) y la fracción albúmina-globulina rica en lisina (5).

Los contenidos de calcio y hierro no cambiaron durante la germinación, mientras que el contenido de fósforo disminuyó. La pérdida de fósforo observada probablemente es debida a la separación de las raíces y los tallos durante el proceso de elaboración de la malta; sin embargo, esto requiere de investigación.

FIGURA 4

Efecto de la adición de 5% de malta diastásica sobre la viscosidad de mezclas rehidratadas (20% de sólidos) después de 5 min. de mezclado

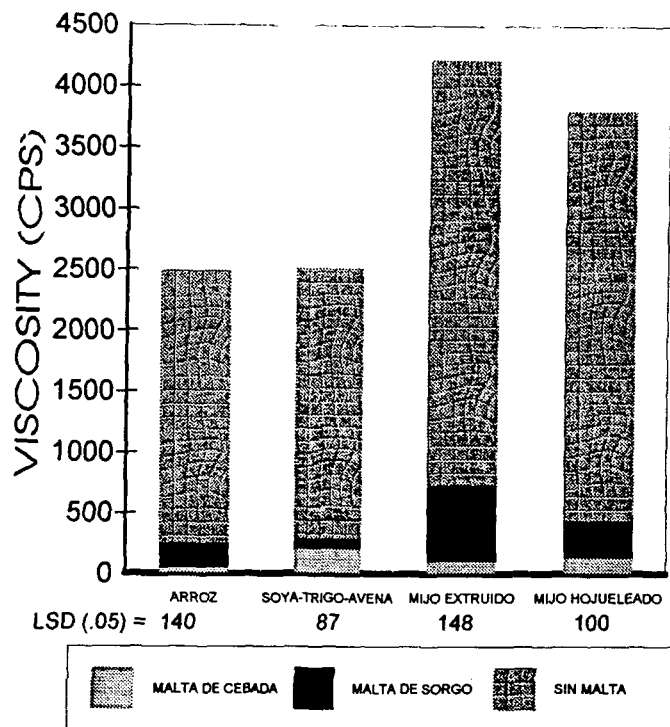


TABLA 2

CALIDAD DE PROTEINAS Y COMPOSICION DE MINERALES (mg/100g) DE SORGO CRUDO Y GERMINADO Y DE MALTA DE CEBADA^a.

Muestra	Digestibilidad de proteína (g/100 g/prot)	C-PER ^b	Ca	Fe	P
Sorgo crudo	72.6	0.68	2.9	4.6	367
Sorgo remojado	76.9	0.79	2.7	3.6	218
Malta de sorgo	78.7	1.00	3.0	3.7	220
Malta de cebada	70.7	2.22	19.8	8.1	278
DMS ^c	2.5	0.14	0.5	0.9	29.5

- a Los valores son promedios de 3 observaciones
- b Para los cálculos se usaron los valores de los contenidos de cistina del sorgo y la cebada reportados por la FAO (25).
- c Diferencias Mínimas Significativas al 5% de significancia.

TABLA 3

EFFECTOS DE LA GERMINACION DE SORGO SOBRE SU CONTENIDO DE AMINOACIDOS (g/100g DE PROTEINA)^a

	Período de Germinación (Días)						Malta de cebada	DMS ^c
	Crudo	0 ^b	2	4	6			
Lisina	2.5	2.5	2.6	3.0	3.2	4.2	0.4	
Histidina	2.4	2.5	2.7	2.5	2.4	4.8	0.4	
Arginina	4.6	4.3	3.9	4.1	3.9	19.7	0.5	
Aspártico	8.3	7.9	9.1	11.4	12.8	4.6	0.6	
Treonina	3.6	3.5	3.6	3.7	3.2	6.4	0.5	
Serina	4.9	4.8	4.6	5.0	4.7	2.9	0.4	
Glutámico	26.1	26.3	25.2	24.1	20.9	5.6	1.5	
Prolina	10.0	9.9	9.8	10.1	9.3	64.5	0.9	
Glicina	3.5	3.3	3.4	3.7	3.6	4.2	0.5	
Alanina	11.1	11.4	10.8	9.9	8.4	4.7	0.6	
Valina	6.0	6.3	6.2	6.3	5.6	5.2	0.3	
Metionina	1.9	2.0	2.0	1.9	1.8	1.8	0.3	
Isoleucina	4.8	4.7	5.0	5.1	4.4	3.5	0.3	
Leucina	15.9	15.8	15.2	14.6	12.1	6.4	1.0	
Tirosina	4.5	4.8	4.8	4.8	4.2	3.4	0.3	
Fenilalanina	6.3	6.4	6.3	6.1	5.2	5.1	0.4	
Triptofano	0.9	1.0	1.0	1.2	1.1	2.1	0.3	

- a Los valores son promedios de 3 observaciones.
- b La muestra corresponde al grano remojado por 20 hr.
- c Diferencias Mínimas Significativas al 5% de significancia.

CONCLUSIONES

Un período de germinación de 3-4 días es adecuado para la producción de malta diastásica de sorgo con máximos rendimiento y actividad de amilasas. La malta obtenida poseerá una capacidad de solubilidad en agua altamente aceptable y una alta calidad proteica. Esta malta de sorgo (o de cebada) con actividad enzimática tiene potencial para ser usada como ingrediente en la formulación de mezclas en polvo tipo instantáneo, fácil de rehidratar, útiles para la preparación de bebidas o cremas con baja viscosidad, alta concentración de sólidos solubles y calidad nutrimental mejorada tales como alimento para infantes y bebidas no carbonatadas.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen los apoyos financiero recibidos de CONACYT, México, y de la Agencia para el Desarrollo Internacional, Washington, a través del fondo DAN 1254-G-SS-5065-00.

REFERENCIAS

1. Watson T.G. y Novellie L. The development of amylase and maltase during malting of sorghum vulgare. *Agrochemophysica*, 7:61-64, 1975.
2. Chavan J.K., Kadam S.S. y Salunkhe D.K. Changes in Tannin, free amino acids, reducing sugars and starch during seed germination of low and high tannin cultivars of sorghum. *J. Food Sci.* 46:638-639, 1981.
3. Aisien A.O. Palmer G.H. y Stark J.R. The development of enzymes during germination and seeding growth in Nigerian sorghum. *Starch/Stärke*, 35(9):316-320, 1983.
4. Novellie L. y Schaepdrijver P. Modern developments in traditional African beers. En: *Progress in Industrial Microbiology* M.R. Admas (Ed). Elsevier Sci. Publishers B.V. Vol 32 p 73-76. 1986.
5. Okoh P.N., Kubiczek R.P., Njoku P.C. y Lyeghe G.T. Some compositional changes in malted sorghum (*Sorghum vulgare*) grain and its value in broiler chick diet. *J. Sci. Food Agric* 49:271-279, 1989.
6. Smith R.L., Hoveland C.S. y Hanna W.W. Water stress and temperature in relation to seed germination of pearl millet and sorghum. *Agron J.* 81:303-305, 1989.
7. Schwartz H.M. Kaffir corn malting and brewing studies. I. The kaffir beer brewing industry in South Africa. *J. Sci. Food Agric.* 7:101-103, 1956.
8. Novellie L. Kaffir beer brewing. Ancient art and modern industry. *Wallerstein Labs. Commun.*, 31:17-18, 1968.
9. Plugfelder R.L. y Rooner L.W. The role of germination in sorghum reconstitution. *Animal Feed Sci. Tech.* 14:243-254, 1986.
10. Malleshi N.G. Daodu M.A. y Chandrasekhar A. Development of weaning food formulations based on malting and roller drying of sorghum and cowpea. *Int J. Food Sci Tech.* 24:511-519, 1989.
11. Taylor J.R.N. Effect of malting on the protein and free amino nitrogen composition of sorghum. *J.Sci Food Agric.* 34:885-892, 1983.
12. Ikemefuna C. y Obizoba C. Nutritive value of malted dry-or-wet-milled sorghum and corn. *Cereal Chem.* 65(6):447-449, 1988.
13. Almeida Domínguez H.d., Serna Saldívar S.O., Gómez M.H. y Rooney L.W. Production and nutritional value of weaning foods from mixtures of pearl millet and cowpeas. *Cereal Chem* 70(1): 14-18, 1993.
14. De Franca J.G.E. Studies of genetic parameters of agronomic grain structure and malting characteristics of sorghum (*Sorghum bicolor* (L) Moench). *Disertación Doctoral*, Texas A & M University, College Station TX, USA, p 20-21, 1990.
15. American Association of Cereal Chemists. *Cereal Laboratory Methods de la AACC*. St. Paul MN. The Association. Métodos 44-19 (humedad), 08-01, 1986.
16. Technico Instrument Corporation. *Autonalyzer II Industrial Method 334-74A/A (nitrógeno)*. Tarrytown NY USA, The Corporation, 1976.
17. Khan M.N., Rooney L.W., Rosenow D.T. y Miller F.R. Sorghums with improved tortilla-making characteristics. *J. Food Sci.*, 45:720-722, 1980.
18. Technico Instrument Corporation. *Autoanalyzer II Industrial Method SF4-0045FA8 (glucosa)*. Tarrytown NY USA. The Corporation, 1978.
19. Anderson R.A. Conway H.F., Pfeiffer V.F. y Griffin E.L. Jr. Gelatinization of corn grits by roll and extrusion cooking. *Cereal Sci. Today* 14:1-4, 1969.
20. Spackman D.H., Stein W.H. y Moore S. Automatic recording apparatus for use of chromatography of amino acids. *Anal Chem* 30:1190-1192, 1958.
21. Association of Official Analytical Chemists. *Official Methods of Analysis of the AOAC* W. Horwitz (Ed) Washington DC, The Association, Métodos 43.263 (hidrólisis alcalina), 43.265 (digestibilidad de proteína) y 43.266 (C-PER).
22. Sandel E.B. *Colorimetric determination of traces of metals*. Interscience Publ. Inc. NY p 411-412. 1950.
23. Fiske C.H. y Subbarow Y. *The colorimetric determination of phosphorus*. *J.Biol Chem.* 66:375-377, 1925.
24. Montgomery D.C. *Design and Analysis of Experiments*. New York, John Wiley & Sons Inc p.64-80, 1976.
25. FAO. *Amino acid content of foods and biological data of proteins*. FAO Nutrient Studies N° 24. Food and Agriculture Organization. Rome 1970.

Recibido: 01-03-1993

Aceptado: 04-03-1994

Functional properties of sunflower seed meal obtained by ethanol extraction

Marisa A.B. Regitano-d'Arce¹, Renata de Paula Assis² and Urgel de Almeida Lima¹

Escola Superior de Agricultura «Luiz de Queiroz». Universidade de São Paulo

SUMMARY. The objective of this work was to determine the functional properties of sunflowerseed meal var. Anhandy obtained through ethanol intermittent oil extraction in four concentrations (99°GL, 96°GL, 93°GL and 90°GL). Meal nitrogen solubility and dispersibility, and oil absorption capacities were evaluated. The highest protein solubility (70%) was obtained in 93°GL extraction meal. 99°GL and 90°GL extracted meals showed the best water absorption performances (11.4 ml H₂O/g protein), while 96°GL meal was the best in oil absorption (7.3 ml free oil absorbed/g protein). The highest nitrogen dispersibility was found in 96°GL and 99°GL meals (1.6% dispersed nitrogen or ca. 27% yield). Nitrogen solubility essays in salt solutions indicated that pH 11 was the best; however, the yield was even lower than in aqueous solutions. Meals obtained with more concentrated ethanol-water solutions were indicated for further processing to concentrates and isolates.

RESUMEN. Propiedades funcionales de harinas de semillas de girasol obtenidas por extracción con etanol. Con este trabajo se buscó determinar las propiedades funcionales de la harina de semillas de girasol var. Anhandy, obtenida por extracción discontinua del aceite con etanol en cuatro concentraciones (99° GL, 96°GL, 93°GL y 90°GL). Fueron determinadas la solubilidad y la dispersibilidad del nitrógeno y la absorción de agua y aceite por la harina. La más alta solubilidad de proteína fue encontrada en el producto obtenido por alcohol de 93°GL, la mejor absorción de agua ocurrió en las harinas producidas con alcohol de 99°GL y 90°GL (11,4 ml H₂O/g proteína) y la mejor absorción de aceite fue detectada en la harina de 96° GL y 99°GL (1,6% N disperso, o rendimiento de 27%). Los ensayos de solubilidad en soluciones salinas apuntaron los mejores resultados a pH 11; sin embargo el rendimiento fue inferior al de las soluciones acuosas. Las harinas obtenidas con mezclas hidroalcoholicas de más alto grado fueron recomendadas para la producción de concentrados y aislados proteicos.

INTRODUCTION

Oilseed proteins are used in food formulations for human consumption in the forms of concentrates and isolates. Sunflower seeds produce an oil with excellent cooking and nutritional qualities. The seeds and meal contain many essential amino acids but are though defficient in lisine and isoleucine, they are also free from antinutritional compounds (1,2,3,4). The proteins in sunflower seeds have 90% digestibility and 60% biological values (5). However, some inherent problems like the high hull content, and presence of cholorigenic acid that darkens the meal when under alkaline conditions, should

not be forgotten (6). The highest chlorogenic acid contents are found in the kernels, which explains it is not be hulls left on the seed that impart dark green or brown colors to the protein concentrates obtained from meals, when whole seeds are processed (7,8). Reportedly, the presence of this phenolic acid does not affect the nutritional properties of the meal (6). Previous researches have demonstrated that ethanol extraction of sunflower oil is feasible (9) and that chlorogenic acid can be extracted using ethanol diluted with water (10) or by solvent mixtures (11). However, hydrated ethanol prevents total isolation of the protein (6). This protein does not seem to interact with the seed phenolic acids, in a way that reduces the yield of protein recovery (12). Minimum solubility of sunflower nitrogen compounds occurs in the range pH 3 to pH 7 (6,13,14) and maximum above pH 8 (6,15,5,16). Solubility can be enhanced by the presence of sodium or calcium ions at pH values under 8 (17,23).

1 Professor of the Agroindustrial Science and Technology Department of ESALQ/USP Caixa Postal 09 CEP 13.418-900 Piracicaba S.P. Brazil.

2 Graduate student of Agronomic Engineering of ESALQ/USP during this work.

Based on findings, the objective of this work was to determine functional properties of meals produced from ethanol extractions of oil as a continuity of former research from our laboratory (9).

MATERIAL AND METHODS

Whole oil-type sunflower seeds var. Anhandy were hydraulically pressed and the cakes deoiled by intermittent extractions with four ethanol concentrations (99°GL, 96°GL, 93°GL and 90°GL) for eight hours at 89°C, using the equipment and process described by Regitano-d'Arce & Lima (10). The meals were prepared for this study by fine grinding in a Wiley type mill. The oil content of the meals was determined according to the Italiana Norme Grassi e Derivati NGD A-4 (18). Moisture determinations were conducted according to the analytical procedures of the Instituto Adolfo Lutz (19). The total nitrogen content was determined according to the micro Kjeldahl procedure (20) and multiplied by 6.25 to estimate crude protein content. Nitrogen solubility curves were determined on 1g meal dispersed in 50 ml aqueous or saline solutions between pH values of 1 and 12, at room temperature. After shaking for one hour, pH was checked and solutions were centrifuged for 20 minutes at 350 x G. Nitrogen was determined in aliquots of the clear supernatant in micro Kjeldahl apparatus (20). The salts employed were CaCl₂ and NaCl. Dispersibility was determined by shaking 0.5 g meal in 25 ml distilled water at pH 7 for 15 minutes, and resting for one hour before reading. Water and oil absorption capacities were determined on 0.5 g meal homogenized in 5 ml water (or refined soybean oil) in graduated centrifuge tubes. After a 30 minute holding period at room temperature, the tubes were centrifuged for an additional 30 minutes at 350 x G, and the volume of free water or oil was read. The retained water/g protein was calculated according to Sosulski & Fleming (21) and the absorbed oil amount/g protein was calculated according to Lin et al (22).

RESULTS AND DISCUSSION

Oil contents of the meals increased as the ethanol concentration employed in the process decreased (Tables 1 and 2). Average moisture contents of the meals were 11.7%. Figure 1 shows almost the same nitrogen solubility behavior for all the four meals studied. Minimum solubility was found between pH 3.5 and 4.5 and the maximum solubility in the narrow range of pH 11.1 and 11.6. Meal nitrogen compounds solubility rose at pH values higher than 3. The observed and expect (6) decrease in solubility was somewhat proportional to the decrease in ethanol strength used to obtain the meals. Nevertheless, close to the pH range of maximum solubility, all meals gave only 63% to 70% yields. When working with 1M CaCl₂ solutions (Figure 2) the solubility increased at low values as verified by Bau et al. (23). The 96°GL meals had

greater yields than 99°GL meals, but both yields were lower than in aqueous solutions (max. 45.2%). pH 11 was the point of maximum solubility. When working with 0.5M CaCl₂ (Figure 3), an increase in solubility in the pH 3 to 6 range was noticed when compared to the 1M CaCl₂. With M NaCl the nitrogen compounds did not seem to be as strongly affected by the salt and solubilized in an increasing way with gradual pH increase from pH 3.5. Maximum solubility was attained by 99°GL meal at pH 12 (48.9% yield).

FIGURE 1
Sunflower meal protein solubility in water

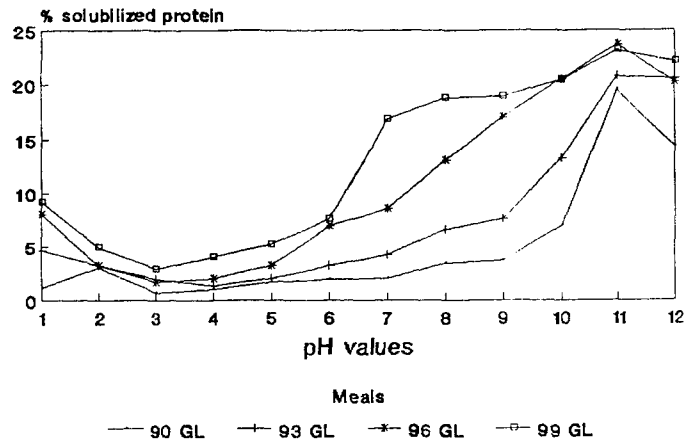


FIGURE 2
Sunflower meal protein solubility in M CaCl₂

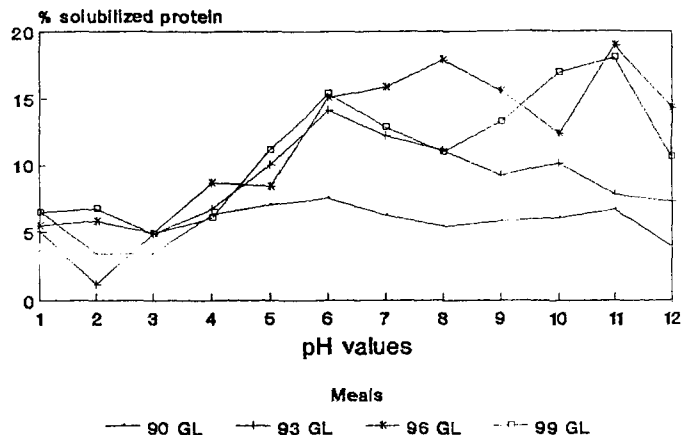


FIGURE 3
Sunflower meal protein solubility in 0.5M CaCl₂
and N NaCl

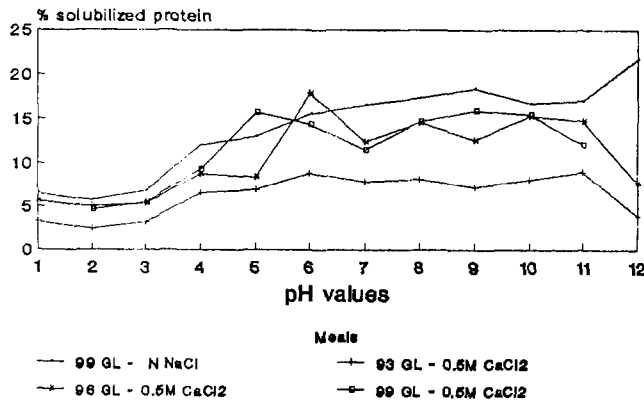


TABLE 1
COMPOSITION OF MEALS USED IN THE NITROGEN
SOLUBILITY IN WATER SUSPENSION ESSAYS:
OIL AND PROTEIN (N X 6.25), DRY MATTER BASIS

EtOH-Extracted meal	Oil (%)	Protein (%)
99° GL	2.0	37.0
96° GL	5.8	34.8
93° GL	12.0	29.7
90° GL	21.5	28.8

TABLE 2
COMPOSITION OF MEALS USED IN THE NITROGEN
SOLUBILITY IN SALT SOLUTIONS ESSAYS:
OIL AND PROTEIN (N X 6.25), DRY MATTER BASIS

EtOH-Extracted meal	Oil (%)	Protein (%)
99° GL	0.4	44.5
96° GL	0.7	41.9
93° GL	2.6	39.1
90° GL	12.7	36.1

The observations on low solubility in acid medium were confirmed by the dispersibility results (Table 3). The pH of the distilled water employed in the tests was 4.5. Meals obtained

using the less hydrated ethanol had higher nitrogen dispersibilities under our conditions of work. The difference in performance is very relevant, when yield is considered (g protein dispersed/total meal protein). Nevertheless, yields are still low.

TABLE 3
PERCENTAGE OF DISPERSED NITROGEN IN THE
MEALS FROM TABLE 2, AND YIELD
IN % PROTEIN DISPERSED % PROTEIN MEAL X 100

	EtOH-Extracted meals			
	99°G	L96°GL	93°GL	90°GL
% N	1.60	1.62	0.66	0.67
Yield (%)	27.7	25.9	9.8	9.4

Table 4 shows that water absorption is proportional to the protein content of the meal, in accordance with Fleming et al. (24). When considering oil absorption capacity, a relative tendency to absorb more oil, at higher oil contents in the meals (in ml oil/g protein) was observed.

This initial evaluation indicated that sunflower meals obtained from whole seeds extracted with ethanol can be employed in food industries either for protein isolate production or for its protein participation in food formulations.

TABLE 4
WATER AND OIL ABSORPTION CAPACITIES OF
MEALS FROM TABLE 2 IN ML WATER
OR OIL/G PROTEIN OR PER G MEAL

	EtOH-Extracted meals			
	99°GL	96°GL	93°GL	90°GL
H ₂ O content	5.07	4.57	4.26	4.12
H ₂ O absorption	11.4	10.9	10.9	11.4
Oil content	2.67	3.06	2.23	2.27
Oil absorption	6.0	7.3	5.7	6.3

ACKNOWLEDGMENTS

To Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) and Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) for the financial support for this research.

REFERENCES

1. Earle FR, CH Vanetten, TF Clark & IA Wolf. Compositional data on sunflower seed. *J Am Oil Chem Soc* 45:876-879, 1968.
2. Galoppini, C & R Fiorentini. Composizione del seme di girasole con particolare riferimento ai costituenti proteici. En: *Il girasole -una fonte di protein e alimentari*. Milano, Consiglio Nazionale delle Richerche, 1981, p. 37-50.
3. Lanzani A, M Cardilo & MC Petrini. Tecnologie per la preparazione di prodotti proteici da farine di girasole. En: *Il girasole -una fonte di protein e alimentari*. Milano, Consiglio Nazionale delle Richerche, 1981, p. 61-76.
4. Robertson JA. Sunflowers: America's neglected crop. *J Am Oil Chem Soc* 49:239-244, 1972.
5. Roberson JA. Use of sunflower seed in food products. *Crit Rev Food Sci Nutr* 6:201-240, 1975.
6. Smith AK & VL Johnsen. Sunflower seed protein. *Cereal Chem* 25:399-406, 1948.
7. Brummett, BJ & EE Burns. Pigment and chromogen characteristics of sunflower seed. *J Food Sci* 37:1-3, 1972.
8. Burns EE, LJ Talley & BJ Brummett. Sunflower utilization in human foods. *Cereal Sci Today* 17:287-289, 298, 1972.
9. Regitano-d'Arce, MAB. Ensaio de extração de óleo de girassol (*Helianthus annuus* L.) com álcool etílico. [Master's Dissertation] Piracicaba, ESALQ/USP, 133p, 1985.
10. Regitano-d'Arce, MAB & UA Lima. Emprego do álcool etílico na extração de óleo de sementes de girassol (*Helianthus annuus* L.). *Ciencia Tecnolg Alim*, 7:1-14, 1987.
11. Rossi M, C Peri & M Riva. Produzione di farine proteiche da girasole. II. Estrazione combinata dell'oleo e dell'acido clorogenico. *Riv Ital Sostanze Grasse*, 57:509-512, 1980.
12. Cater, CMS, S Gheysuddin & KF Mattil. The effect of chlorogenic quinic and caffeic acids on the solubility and color of protein isolates especially from sunflower seed. *Cereal Chem*, 49:508-514, 1972.
13. Gheysuddin S, CM Cater & KF Mattil Effect of several variables on the extractability of sunflower seed proteins. *J Fd Sci*, 35:453-456, 1970.
14. Rahma EH & MS Narasing Rao. Characterization of sunflower proteins. *J Food Sci*, 44:579-582, 1979.
15. Kilara A, ES Humbert & FW Sosulski, Nitrogen extractability and moisture adsorptive characteristics of sunflower seed products. *J Food Sci*, 37:771-773, 1972.
16. Madhusudhan KT & H Srinivas. Effect of roasting on the functional properties of sunflower meal. *Lebensm Wiss Techn*, 20:8-11, 1986.
17. Rossi M & C Peri. Utilizzazione nell' alimentazione umana di farine, concentrati e isolati e formulazione. En: *Il girasole -una fonte di proteine alimentari*. Milano, consiglio Nazionale delle Richerche, p. 89-105, 1981.
18. Stazione Sperimentale per le Industrie degli Oli e dei Grassi. *Norme Grassi e Derivati*. Milano, SSOG, 1976.
19. Instituto Adolfo Lutz. *Normas analíticas, v. Métodos químicos e físicos para análises de alimentos*. 3ed. São Paulo, IAL, p. 21, 1985.
20. Association of Official Analytical Chemists. *Official methods of analysis of the AOAC*. 11th ed. Washington, DC, The Association, p. 16, 1970.
21. Sosulski F & SE Fleming. Chemical, functional and nutritional properties of sunflower protein products. *J Am Oil Chem Soc*, 54:100A-104A, 1977.
22. Lin MJ, ES Humbert & FW Sosulski. Certain functional properties of sunflower meal products. *J Food Sci*, 39:368-370, 1975.
23. Bau HM, DJ Mohtadi-nia, L Mejean & G Debry. Preparation of colorless sunflower protein products: effect of processing on physicochemical and nutritional properties. *J Am Oil Chem Soc*, 60:1141-1148, 1983.
24. Fleming SE, FW Sosulski, AE Kilara & ES Humbert. Viscosity and water absorption characteristics of slurries of sunflower and soybean flours, concentrates and isolates. *J Food Sci*, 39:188-181, 1974.

Recibido: 11-05-1993

Aceptado:19-10-1993

Sunflower seed protein concentrates and isolates obtention from ethanol oil extraction meals - (Technical note)

Marisa A.B. Regitano-d'Arce¹, Erika M. Roel Gutierrez² and Urgel de Almeida Lima¹

Escola Superior de Agricultura «Luiz de Queiroz». Universidade de São Paulo

SUMMARY. The objective of this work was to study and identify the necessary processing steps for obtaining good quality sunflowerseed protein concentrate and isolate when the oil is extracted with ethanol. This work is part of a research project on using ethanol as renewable solvent for sunflower seed oil recovery and possible further processing of the meal. Both 99°GL and 90°GL ethanol were employed in the extractions to produce the concentrate. Isolates were obtained by treating the concentrate with NaOH and HCl solutions and final rinsing with acidified water. Both products were light in color and almost free from chlorogenic acid.

RESUMEN. Obtención de concentrados y aislados proteicos de harinas de semillas de girasol tratadas con alcohol etílico. Este trabajo fue desarrollado con el objetivo de observar e identificar los pasos necesarios para la obtención de concentrado y aislado proteicos de buena calidad de semillas de girasol sometidas a la extracción del aceite con etanol. Los ensayos son la continuación de una investigación a nivel de laboratorio sobre el empleo del alcohol etílico como solvente renovable para la extracción del aceite y posterior utilización de la harina. El concentrado fue obtenido de harinas producidas por extracción del aceite de las tortas con mezclas hidroalcohólicas de 99°GL y 90°GL. El aislado proteico fue producido sometiendo el concentrado a soluciones de NaOH y de HCl y lavándolo al final con agua acidificada. Los dos productos se presentan muy claros y casi totalmente libres de ácido clorogénico.

INTRODUCTION

From the nutritional point of view sunflower seed protein is among the best in the oilseeds due to its content in essential amino acids and absence of antinutritional factors (1). According to Galoppini and Fiorentini (2) the kernel is constituted mainly of lipids and proteins, and the pericarp almost totally of glucidic substances (cellulose, hemicellulose and lignin) and waxes, which require dehulling of the seed.

Solubility of the protein is of great interest in obtaining protein concentrates and isolates. Smith and Johnsen (3) studied the solubility of sunflower seed nitrogen compounds as a function of pH and found that their minimum solubility is in the range of pH 3 to 7, which was also confirmed later (4,5).

The highest solubility of sunflower occurred at alkaline pH's (6). The low dispersibility of sunflower protein in water was attributed to the presence of chlorogenic acid, which when present in the meals also caused darkening of the protein concentrates and isolates (7). Brummett and Burns (8) and others (9,10) found higher chlorogenic acid contents in sunflower kernels than in the hulls, which confirmed that the hulls left on the seeds were not the main responsible for the dark green color of protein products.

Several solvents were evaluated regarding their ability to remove chlorogenic acid from sunflower meals. Gheyasuddin et al (4) employed both aqueous 25% sodium sulphite solution at pH 10.5 in the proportion 1:10 (m/v) and 50% aqueous isopropanol in extraction trials. Citric acid and boiling sodium bisulphite solutions produced light color meals, the first lighter than the latter (11). N-butanol and 0.005N hydrochloric acid (92:8) were successfully employed in obtaining low chlorogenic acid content meals (12). Rossi et al (13) used aqueous ethanol 1:5 (m/v) and also reduced the chlorogenic acid concentration.

1 Professor of the Agroindustrial Science and Technology of ESALQ/USP Caixa Postal 09 CEP 13.418-900 Piracicaba S.P. Brazil.

2 Graduate student of Agronomic Engineering of ESALQ/USP during this work.

Previous work (14) demonstrated that it is technically feasible to extract the oil and the chlorogenic acid from the seeds and sunflower cakes by ethanol at different water-alcohol ratios.

The objective of the present work was to study and determine the necessary steps for obtaining sunflower protein concentrates and isolates from the meals where oil was extracted with ethanol.

MATERIAL AND METHODS

Anhandy var., oil-type, sunflower seeds were used. The hulls, kernels, meals, concentrates and isolates were analysed for oil content (15), moisture content (16) and crude protein content (17) using the conversion factor 6.25. Chlorogenic acid was determined according to the colorimetric method of Bittoni et al (18).

Chlorogenic acid free protein concentrate

1st. trial. Kernels ground through sieve N^o 10 were extracted five times with 99°GL ethanol in the ratio of 1:5 (m/v) initially and 1:4 (m/v) in the last four, for 15 minutes each, using water bath at 75°C and magnetic stirring to recover the oil. The same rates and times were used for the 90°GL extractions. The product was filtered, rinsed with water, and air dried at ambient temperature.

2nd. trial. The same procedure as above was used, except that four 90° GL extractions were performed, instead of three.

3rd. trial. The extraction procedure was the same as above, but rinsing was done with 0.005 N hydrochloric acid and the concentrate was dried in a forced draft oven at 40°C.

4th trial. The water bath temperature during extraction was lowered to 70°C.

Preparation of isolate

An adaptation of Sodini and Canella (12) was followed as shown in Figure 1.

RESULTS AND DISCUSSION

Dehulled sunflower seeds employed in Trial 1 contained 61.01% oil and 19.96% protein on a dry matter basis. The dehulled seeds used in Trials 2 to 4 contained 53.63% and 33.58% protein on a dry matter basis.

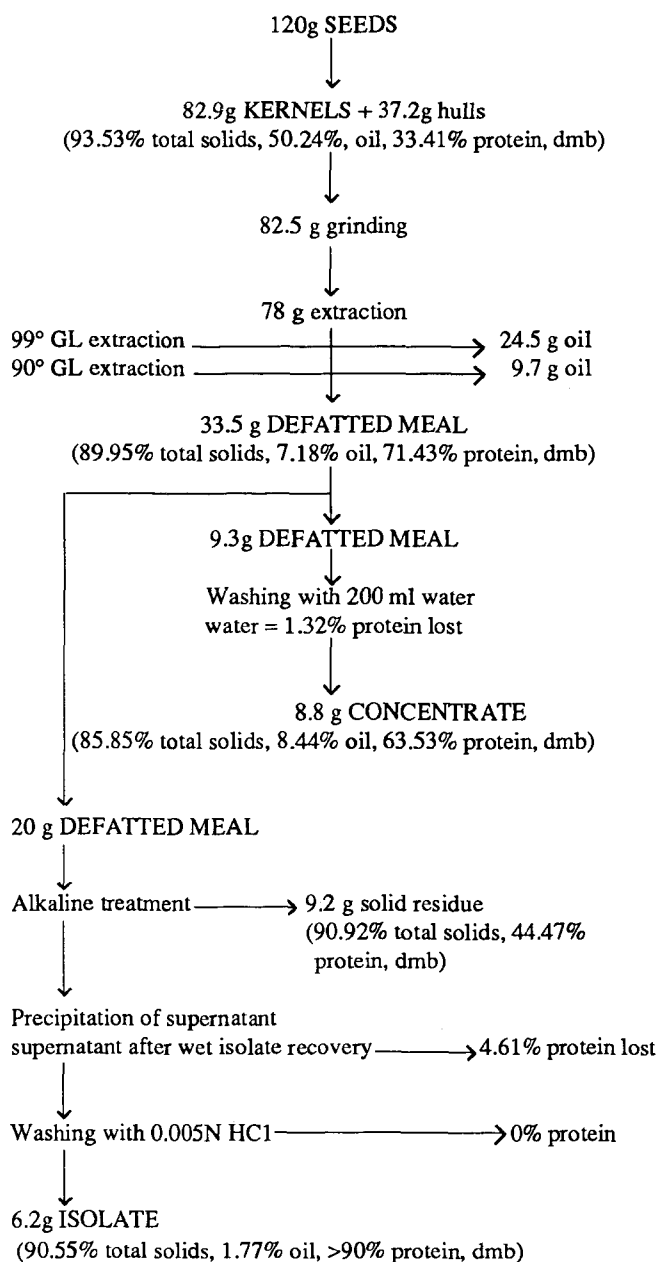
Trial 1 produced a dark beige concentrate with 1.57% oil and 62.76% protein. Trial 2 produced an isolate which was darker and contained 0.45% chlorogenic acid, due to water rinsing. Rinsing with hydrochloric acid (Trial 3) and drying at 40°C produced a better isolate (lighter in color and better in appearance and texture) with 0.05% chlorogenic acid. The lower extraction temperatures in Trial 4 resulted higher protein content in the isolate, possibly due to less protein denaturation under heat.

It was also observed that rinsing either with water or acid led to protein losses. According to Meyer (19) minimum protein content in a concentrate should be 70% and this was

obtained only when rinsing was omitted.

Protein isolate was successfully produced according to the scheme in Figure 1 and its chlorogenic acid content was almost zero which assured a good and light color. This result is a good foundation for continuation of our work in evaluating ethanol as a solvent for industrial oil extraction since its meals can be kept in the extractor and turned into chlorogenic acid free concentrates by use of diluted ethanol recovered from simple distillation of the miscella.

FIGURE 1
Concentrate and isolate obtention steps



REFERENCES

1. Lanzani A., M. Cardillo & MC Petrini. Tecnologie per la preparazione di prodotti proteici da farine di girasole. En: II girasole -una fonte di proteine alimentari. Milano, Consiglio Nazionale delle Ricerche, p 61-76. 1981.
2. Galoppini C & R. Fiorentini. Composizione del seme di girasole con particolare riferimento ai costituenti proteici. En: II girasole -una fonte di proteine alimentari. Milano, Consiglio Nazionale delle Ricerche, p. 37-50. 1981.
3. Smith AK & VL Johnsen. Sunflower seed protein . Cereal Chem 25:399-406. 1948.
4. Gheyasuddin S., CM Cater & KF Mattil Effect of several variables on the extractability of sunflower seed proteins. J Food Sci, 35:453-456, 1970.
5. Rahma EH & MS Narasinga Rao. Characterization of sunflower proteins. J Food Sic. 44:579-582. 1979.
6. Madhusudhan KT & H. Srinivas. Effects of roasting on the functional properties of sunflower meal. Lebensm Wiss Techn, 20:8-11, 1986.
7. Robertson JA. Use of sunflower seed in food products. Crit Rev Food Sci Nutr 6:201-240, 1975.
8. Brummett BJ & EE Burns. Pigment and chromogen characteristics of sunflower seed. J Food Sci 53:1127-1143, 1988.
10. Regitano-d' Arce, MAB. Ensaios de extração de óleo de girassol (*Helianthus annuus L.*) com álcool etílico. (Master's Dissertation) Piracicaba, ESALQ/USP, 133p. 1985.
11. Bau H.M. DJ Mohtadi-nia, J. Mejeanl & G Debry. Preparation of colorless sunflower protein products: effect of processing on physicochemical and nutritional products: effect of processing on physicochemical and nutritional properties. J Am Oil Chem Soc 60:1141-1148. 1983.
12. Sodini G & M Canella. Acidic butanol removal of colorforming phenols from sunflower meal. J Agric Food Chem 25:822-825. 1975.
13. Rossi M., C Peri & M. Riva. Produzione di farine proteiche da girasole. II. Estrazione combinata dell'oleo e dell'acido clorogenico. Riv Ital Sostanze Grasse, 57:509-512. 1980.
14. Regitano-d'Arce, MAB & UA Lima. Emprego do álcool etílico na extração de óleo de sementes de girassol (*Helianthus annuus L.*). Ciên Tecnol Alim. 7:1-14. 1987.
15. American Oil Chemists Society. Official and tentative methods. 3ed. Champaign, AOCS. 1983.
16. Instituto Adolfo Lutz. Normas analíticas v. Métodos químicos e físicos para análises de alimentos. 3ed. São Paulo, IAL, p.21. 1985.
17. Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis of the AOAC 11ed. Washington DC. The Association p. 16. 1970.
18. Bittoni A., G Sodini. E. Emmi & F. Cardinali. Método colorimétrico per la determinazione rapida dei cromogeni fenolici contenuti in farine, concentrati ed isolati proteici di girasole. Riv Ital Sostanze Grasse, 54:421-424. 1977.
19. Meyer EW. Oilseed protein concentrates and isolates J Am, Oil Chem Soc. 48:484-488. 1971.

Recibido: 02-04-1993

Aceptado: 07-03-1994

Barras de cereales maní y amaranto dilatado: Composición química y estabilidad en almacenamiento acelerado

Berta Escobar A, Ana María Estévez, Magaly Vásquez D., Elena Castillo V. y Enrique Yañez D.

Departamento de Agroindustria y Tecnología de Alimentos de la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales.
Universidad de Chile. Instituto de Nutrición y Tecnología de Alimentos. INTA. Universidad de Chile

RESUMEN. Usando la línea de flujo de Escobar et al, se prepararon 3 formulaciones CM3A - CM3B y CM3C con diferentes cantidades de avena, germen de trigo y amaranto dilatado; para su aglutinación se emplearon edulcorantes naturales y materias grasas. A las materias primas y a los «snacks» se les hizo análisis químico proximal. Los snacks se evaluaron sensorialmente para conocer su calidad y aceptabilidad.

Para determinar la estabilidad de las barras durante el almacenamiento acelerado, estas se conservaron en estufa a 37°C por 15 días, se analizaron cada 5 días para medir la evolución de actividad de agua (Aw), humedad, desarrollo de peróxidos y se controló sensorialmente la aparición de rancidez. La aceptabilidad de la barra CM3B fue de 91.67% con 0.0% de rechazo, CM3A y CM3C obtuvieron igual aceptabilidad (66.67%) y 8.33% de rechazo. En el almacenamiento acelerado Aw y la humedad disminuyeron hasta llegar a un valor de 0.48 y 5.9 respectivamente en la barra CM3B. el contenido de peróxido en las barras CM3B y CM3C aumentó gradualmente hasta llegar a los 15 días a 12 y 17 meq/kg respectivamente. El aroma a rancio no siguió un patrón común en las 3 barras ya que CM3A y CM3B tuvieron una disminución a los 15 días no así las barras CM3C. En síntesis se puede decir que la barra CM3B presentó la mejor calidad sensorial, la más alta aceptabilidad y la mejor estabilidad en el almacenamiento acelerado.

SUMMARY. Cereal bars with peanut and puffed amaranthus: chemical composition and stability in accelerated storage. Three different cereal bars, CM3A - CM3B and CM3C were prepared following the flow sheet of Escobar et al: different amount of oat, wheat germ, and puffed amaranthus were used: to stick them together, natural sweeteners and fats were added. Proximate analysis, were run on raw materials and snack bars. They were evaluated organoleptically to know their quality and acceptability. Bars were kept in accelerated storage at 37°C during 15 days to know their stability. Every 5 days were measured the water activity (Aw), moisture, and peroxides development; also appearance of organoleptic rancidity. Acceptability of bar CM3B was 91.67% with 0.0% of rejection; CM3A and CM3C got the same acceptability (66.67%) and 8.33% of rejection. In accelerate storage, Aw and moisture content decreased until reaching a value of 0.48 and 5.9 in the CM3B bar, respectively. Peroxide content of CM3B and CM3C increased gradually up to 12 and 17 meq/kg respectively at 15 days. Rancid aroma appearance was not the same in the bars, CM3A and CM3B had a decreasing at 15 days, while CM3C showed an increasing at the same time. In brief, CM3B showed the best sensory quality, the higher acceptability and the greater stability in accelerated storage.

INTRODUCCION

La demanda de alimentos de consumo inmediato tipo «snack» de aspecto y sabor atractivos ha crecido explosivamente a nivel mundial. En general, en Europa y Estados Unidos a las características anteriormente mencionadas van aparejadas el buen aporte nutritivo y la posibilidad de reemplazo de una comida formal. Recientemente se ha prestado mucha atención al consumo de alimentos naturales con alto contenido de fibra y bajos niveles de aditivos (1,2).

La importancia de entregar, a través de los «snacks», energía y proteínas de buen valor biológico, radica en que los niños y adolescentes presentan una gran preferencia por este tipo de productos, y debido a esto podrían cumplir una función destacada en el desarrollo físico y mental de ellos. La mezcla de leguminosas y cereales en la formulación de «snacks» puede llegar a ser importante desde el punto de vista nutritivo, ya que las leguminosas son una buena fuente de lisina y los cereales de aminoácidos azufrados.

El consumo per-cápita de los «snacks» continua en aumento

y es así como en el mercado de Estados Unidos y Europa ha habido un incremento alrededor de un 88% y 80% respectivamente, en los últimos 10 años; en este momento según Tettweiler (3) consumir «snacks» está de moda.

Por otro lado el uso de amaranto en la alimentación humana está adquiriendo mayor interés por su alto contenido en fibra, su buen nivel de proteínas, por tener un alto contenido de lisina y cantidades adecuadas de triptófano y aminoácidos azufrados (4), el amaranto dilatado (expandido) es una manera conveniente de usarlo en la formulación de alimentos. Una barra tipo de cereales está constituida por una base de avena machacada, trigo entero u otros cereales, miel, aceite de soya, suero de leche deslactosado y saborizantes de malta (5). También se pueden usar cereales expandidos, masas azucaradas o materias grasas como agentes ligantes (6). La utilización en las formulaciones, de alimentos ricos en materias grasas como el maní o materia grasa como el aceite de maravilla, les da un adecuado valor energético, pero también los expone al desarrollo de rancidez oxidativa, la cual afecta la aceptabilidad y calidad nutricional del producto. La percibibilidad de la semilla de maní ha sido un factor limitante en su utilización en alimentos en muchos países del mundo. El alto contenido de aceite en la semilla, alrededor de 50% la hace propensa a un deterioro oxidativo e hidrolítico (7).

De acuerdo a lo anteriormente dicho, los objetivos de este trabajo fueron: -Establecer la mejor formulación usando amaranto dilatado en la elaboración de barras. -Determinar la estabilidad en el almacenamiento acelerado de las barras.

MATERIALES Y METODOS

Usando la línea de flujo diseñada por Escobar et al (8). (Fig. 1) se elaboraron tres tipos de barras con diferentes niveles de avena tostada, germen de trigo tostado y amaranto dilatado. Este último se obtuvo sometándolo a alta presión (150 libras/pulg² y 110°C) y posterior liberación brusca de ella.

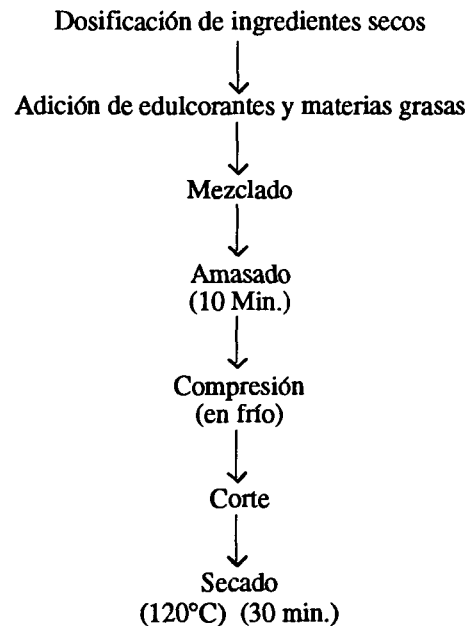
Para estas barras se utilizó además maní tostado y extruido de harina de trigo con cobertura de caramelo, en cantidades iguales para las tres formulaciones. En la aglutinación de las barras se empleó una mezcla de edulcorantes naturales en forma de jarabe, además se utilizó aceite de maravilla y lecitina como ingredientes grasos.

A las materias primas y a las barras CM₃A, CM₃B y CM₃C se les realizó análisis químico proximal según la A.O.A.C (9); a estas últimas se les determinó calidad sensorial por el método Scoring y aceptabilidad según escala Hedónica de 9 puntos (1= me disgusta extremadamente y 9 = me gusta extremadamente) (10); para esto se utilizó un panel entrenado constituido por 12 y 24 personas respectivamente.

Para determinar la estabilidad de las barras durante el almacenamiento acelerado se conservaron en estufa a 37°C por 15 días. Se analizaron cada 5 días para medir la evolución de la actividad de agua (Aw) (en determinador Lufft. Modelo 5308), el desarrollo de peróxidos, (por liberación de yodo a

partir de una solución de yoduro de potasio en ácido acético glacial, expresado como meq/kg de materia grasa); la humedad y se controló sensorialmente la aparición de rancidez utilizando una escala de 1-4 puntos (1= sin rancidez y 4= rancidez fuerte).

FIGURA 1
Línea de flujo para la elaboración de barras



CM₃A = 12% Avena tostada
12% Germen de trigo tostado
6% Amaranto dilatado

CM₃B = 12% Avena tostada
6% Germen de trigo tostado
12% Amaranto dilatado

CM₃C = 6% Avena tostada
12% Germen de trigo tostado
12% Amaranto dilatado

RESULTADOS Y DISCUSION

Composición química de las materias primas y de las barras.

En la Tabla 1 se presenta la composición química proximal de algunas materias primas utilizadas en la formulación de las barras.

TABLA 1
COMPOSICIÓN QUÍMICA DE MATERIAS PRIMAS
(g/100 g)

	Humedad	Cenizas	F.cruda	E.etéreo	Proteína	E.N.N.*
Amaranto dilatado	4.6	2.2	4.4	4.7	11.4	72.7
Germen de trigo	1.8	3.8	2.8	9.1	21.3	61.2
Avena	3.4	1.5	1.4	5.9	12.8	75.0
Hojuela de trigo	3.9	0.4	Trazas	0.14	4.2	91.4
Maní	0.7	2.7	6.5	47.8	25.7	16.6

* Extracto no nitrogenado (por diferencia)

El aporte proteico de cada una de ellas excepto el de la hojuela de trigo extruida es superior al 10% lo que las hace importantes desde el punto de vista nutricional, también todos ellos significan un aporte de fibra y de cenizas considerable y de un suministro adecuado de calorías provenientes de carbohidratos y de lípidos. Los valores obtenidos en avena son semejantes a los presentados en la Tabla de Composición Química de Alimentos Chilenos (11).

El análisis químico proximal de las barras (Tabla 2) indica que el contenido de proteínas y fibra cruda es bueno comparado con un producto tipo snack elaborado con harina refinada de trigo (8), siendo un poco mayor en la barra CM₃A. El menor contenido de proteínas de CM₃B y CM₃C se puede deber a un mayor contenido de amaranto dilatado que comparativamente tiene un menor contenido de proteínas que el germen de trigo (21,3%) y la avena tostada (12,8%). (Tabla 1). El menor contenido de fibra de la barra CM₃B podría deberse a una disminución en el contenido de germen en esta formulación.

TABLA 2
COMPOSICIÓN QUÍMICA DE BARRAS DE
CEREALES, MANI Y AMARANTO DILATADO
(g/100 g)

	CM ₃ A	CM ₃ B	CM ₃ C
Humedad	9.9	10.0	10.1
Cenizas	1.7	1.6	1.8
Fibra cruda	1.6	1.1	1.4
Extracto etéreo	22.0	23.9	23.4
Proteínas	11.1	10.0	10.6
E.N.N.*	53.7	53.4	52.7

* Extracto no Nitrogenado (por diferencia).

Calidad y aceptabilidad sensorial. En la Tabla 3 se puede apreciar la calidad de las barras, siendo CM₃B la que presentó los mejores puntajes en apariencia, color, aroma y dulzor.

TABLA 3
CALIDAD DE LAS BARRAS DE CEREALES, MANI Y
AMARANTO DILATADO
(g/100 g)

	CM ₃ A	CM ₃ B	CM ₃ C
Apariencia	6,58	6,58	6,42
Color	4,91	5,75	5,67
Aroma	4,92	5,08	4,92
Acidez	2,67	3,00	2,67
Dulzor	5,00	5,25	5,00
Astringencia	3,08	3,08	3,00
Crocancia	3,33	3,25	3,25
Amargor	2,83	2,83	2,58
Sabor	5,08	4,92	4,92

En cuanto a la aceptabilidad sensorial de las barras (Tabla 4), el puntaje promedio más alto correspondió a la barra CM₃B presentando ésta un 0.0% de rechazo; la barra CM₃A que tenía el menor porcentaje de amaranto dilatado presentó el menor puntaje promedio, las barras CM₃A y CM₃C no presentaron diferencia en cuanto al porcentaje de aceptabilidad.

TABLA 4
ACEPTABILIDAD DE LAS BARRAS ELABORADAS
CON CEREALES, MANI Y AMARANTO DILATADO

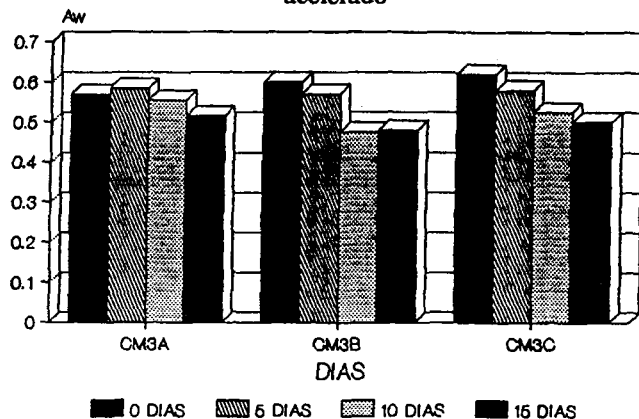
	CM ₃ A	CM ₃ B	CM ₃ C
X	6.08	6.58	6.25
% Rechazo	8.33	0.00	8.33
% Indiferencia	25.00	8.33	25.00
% Aceptabilidad	66.67	91.67	66.67

Almacenamiento acelerado. Respecto a la evolución de Aw en el almacenamiento (Fig. 2) se pudo observar que en las barras con un 12% de amaranto dilatado (CM₃B - CM₃C) hay mayor tendencia de la disminución de Aw, la barra CM₃A que

solo tiene un 6% de amaranto dilatado presentó un valor inicial de A_w inferior al de las otras barras, manteniéndose este durante todo el período de almacenamiento prácticamente constante.

FIGURA 2

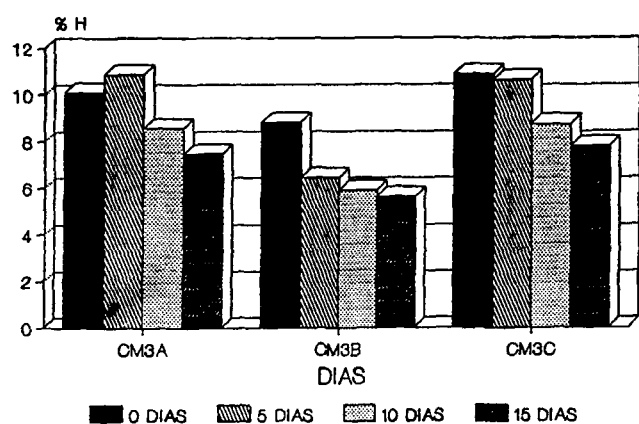
Evolución de la actividad de agua en almacenamiento acelerado



En la (Fig. 3) se aprecia la evolución de la humedad en el almacenamiento la cual siguió un comportamiento semejante al presentado en A_w , la barra CM₃B presentó el menor valor de humedad al inicio de la experiencia, el cual, fue disminuyendo paulatinamente hasta llegar al menor nivel a los 15 días.

FIGURA 3

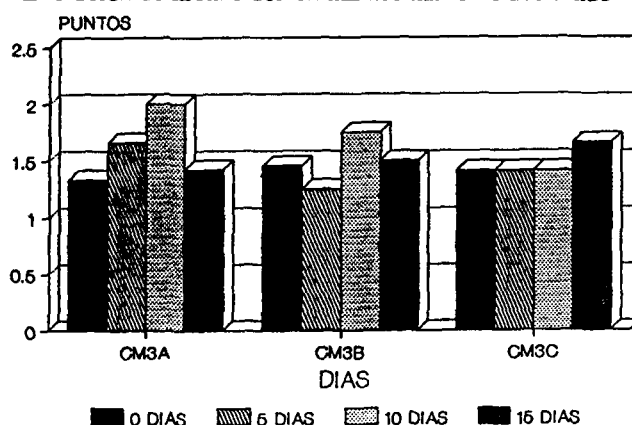
Evolución de la humedad en almacenamiento acelerado



La aparición de rancidez sensorial en el almacenamiento (Fig. 4) muestra que no hubo un comportamiento común en las tres barras, ya que a los 15 días hubo un descenso en los niveles de rancidez sensorial en las barras CM₃A y CM₃B las cuales contenían el mismo porcentaje de avena en su formulación. En cambio en la barra CM₃C la aparición de aroma a rancio solo se manifestó a los 15 días con porcentaje superior al de las otras barras en esa misma fecha.

FIGURA 4

Evolución de la rancidez en almacenamiento acelerado**

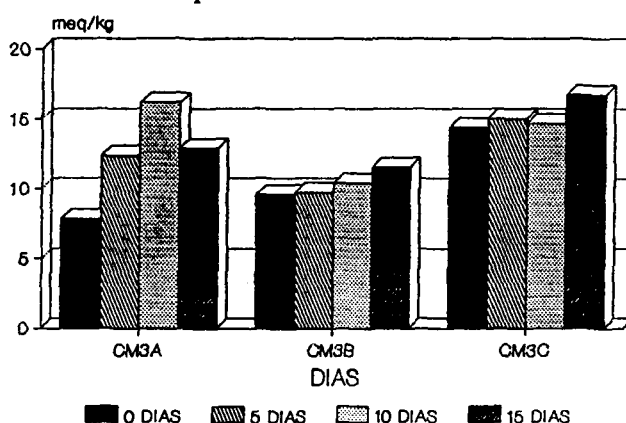


** POR EVALUACION SENSORIAL

En cuanto al desarrollo de peróxidos (Fig. 5) este presentó el comportamiento esperado en las barras CM₃B y CM₃C subiendo los niveles en forma gradual hasta llegar a los 15 días a valores que aún están dentro de un rango de normalidad inferior a 20 meq/kg de materia grasa. La barra CM₃A presentó el mismo comportamiento que el observado en la rancidez sensorial; en su formulación esta barra contiene una mayor cantidad de avena y germen de trigo en comparación a las otras barras.

FIGURA 5

Desarrollo de peroxidos en almacenamiento acelerado



Los mayores niveles de peróxidos obtenidos en las barras CM₃A y CM₃C podrían deberse al mayor contenido de germen de trigo que presentan en su formulación.

De esta investigación se puede concluir que la formulación CM₃B, que contenía el menor porcentaje de germen de trigo y un 12% de amaranto dilatado presentó la mayor aceptabilidad sensorial. Además esta misma barra presentó la mayor estabilidad en el almacenamiento acelerado debido a su baja humedad, actividad de agua y niveles de peróxidos.

Investigación financiada por el Proyecto FONDECYT 989/90; y Proyecto DTI A-3031.

REFERENCIAS

1. Torres E. Snack: alimento muchas veces controvertido. Alimentos procesados. Vol. 7(10): 14-16, 1988.
2. Hoffman La Roche. Snacks gourmet. Alimentos procesados. Vol. 8(5):16-18, 1989.
3. Tettweiler. Snack Food Worldwide. Food Technol (February): 58-62, 1991.
4. Paredes-López O., Barda de la Rosa, A.P. and Carabez-Trejo, A. Enzymatic Production of High-Protein Amaranth Flour and carbohydrate Rich Fraction. Journal of Food Science 55 (4):1157-1161, 1990.
5. Anónimo. Functional granola ingredients for Baked goods snacks, confections (original no consultado; compendiado en Food Science and Technology Abstract. 12(7): 7 M 876, 1980.
6. Komen G. Trends and future of cereal bars (Original no consultado; compendiado en Food Science and Technology Abstract. 19(5): 5M 176, 1987.
7. Shewfelt A.L., Young C.T. Storage stability of peanut-bases foods: Journal of Food Science. 42(5): 1148-1152, 1977.
8. Escobar B., Estévez A.M., Vásquez M., Castillo E., Araya E. Aporte calórico-proteico de barras tipo snacks elaborados con cereales y maní. Alimentos 17(3): 5-10, 1992.
9. Association of Official Agricultural Chemist. Official Methods of Analysis of the A.O.A.C. 13° Ed. Washington D.C. The Association, 1980.
10. Watts B.M., Ylimaki G.L., Jeffery L.E., Elias L.G. Basic sensory methods for foods evaluation international development research centre. IDRC Ottawa-Canadá, p.66-90. 1989.
11. Schmidt-Hebbel H., Pennacchiotti I., Masson L. y Mella M.A. Tabla de composición química de alimentos chilenos. 8° Ed. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Departamento de Ciencias de los Alimentos y Tecnología Química, Universidad de Chile. Santiago-Chile. p.16. 1990.

Recibido: 02-04-1993

Aceptado:07-03-1994

Efecto de la maduración y el secado en el contenido de carotenoides pro-vitamina A en chile (*Capsicum annuum* var. *Anaheim*)

Silvia Y. Moya¹, Luis A. Mejía², Elvira González de Mejía³ y Francisco A. Vázquez⁴

Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. (CIAD, A.C.)
Hermosillo, Sonora, México.

RESUMEN. Se determinó el contenido de los principales carotenoides biológicamente activos (α -, β -, gama-caroteno y β -criptoxantina), para conocer el aporte de vitamina A en chile «verde» (*Capsicum annuum* var. *Anaheim*) durante el proceso tradicional de maduración y secado. La técnica analítica usada fue cromatografía líquida de alta resolución, empleando una columna Novapack ODS-RPC18 y acetonitrilo/metanol/tetrahidrofurano (58v:35v:7v) como fase móvil. Los valores de actividad vitamínica A fueron 75.4 ± 5.8 , 310.2 ± 52.7 y 3102.9 ± 11.0 μg de ER/100 g de porción comestible, para chile inmaduro, maduro y seco, siendo significativamente diferentes ($p < 0.05$) aún cuando se compararon en base seca (7.2 ± 0.8 , 51.1 ± 2.4 y 55.3 ± 1.2 μg de ER/g peso seco). Beta-Caroteno representó alrededor del 95% de la actividad total, y se sintetizó más rápidamente que los carotenoides restantes, durante la maduración. El contenido máximo alcanzado en los niveles de carotenoides se observó a los 14 días después de cosechado, los valores obtenidos fueron 26.3 ± 1.9 , 24.4 ± 2.3 y 170.9 ± 22 $\mu\text{g/g}$ peso seco, para β -criptoxantina, α -caroteno y β -caroteno respectivamente y disminuyeron posteriormente. Con los resultados del estudio puede concluirse que durante la maduración del chile verde (*Capsicum annuum* var. *Anaheim*) sigue la síntesis de carotenoides y las condiciones de secado permiten que ésta continúe.

SUMMARY. Effect of ripening and drying on pro-vitamin A carotenoids content in pepper (*Capsicum annuum* var. *Anaheim*). The content of the principal carotenoids with biological activity (α -, β -, gamma-carotene and β -criptoxantine) in green pepper (*Capsicum annuum* var. *Anaheim*) was determined in order to investigate the vitamin A content during the traditional process of ripening and drying. The analytical technique used was high pressure liquid chromatography (HPLC) with a Novapack C₁₈ column and acetonitrile/methanol/tetrahydrofuran (58V:35V:7V) as a mobile phase. The results showed differences in vitamin A activity of 7.2 ± 0.8 , 51.1 ± 2.4 and 55.3 ± 1.2 μg of RE/g dry matter for immature, mature and dry pepper fruit respectively ($p < 0.05$). Approximately 95% of total activity was due to β -carotene being synthesized faster than the other carotenoids under study during the ripening process. Total vitamin A activity reached its highest value at 14 days after harvest (2738.8 ± 128.6 μg RE/100 g of edible portion), with a decrease in activity with time.

INTRODUCCION

Los carotenoides representan al más amplio grupo de pigmentos naturales, están químicamente relacionados a los compuestos terpenos y terpenoides y son sintetizados *de novo* únicamente en las plantas aunque se encuentran también en los animales que los adquieren a través de la dieta (1).

El organismo humano es capaz de absorber, modificar y almacenar a los carotenoides; esto es importante por la conocida conversión de algunos carotenoides en retinol (vitamina A).

- 1 Investigadora Asociada, Dirección de Nutrición, CIAD, A.C.
- 2 Investigador Titular, Dirección de Nutrición, CIAD, A.C. Actualmente: Director de Nutrición para América Latina. Kellogg's Co. Apartado Postal 78, Querétaro, México.
- 3 Investigador Titular, Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos, CIAD, A.C. Actualmente, Directora del Postgrado en Alimentos. Facultad de Química. Universidad de Querétaro. México.
- 4 Técnico Académico de Nutrición, CIAD, A.C.

De los 500 carotenoides conocidos, alrededor del 10% pueden ser convertidos en vitamina A (2) y principalmente α -, β -caroteno y β -criptoxantina tienen actividad vitamínica A significativa (3). Esta conversión *in vivo* juega un papel muy importante en los países en desarrollo ya que los vegetales contribuyen a cubrir el requerimiento de vitamina A. Además existen evidencias recientes sobre el efecto protector de los carotenoides al desarrollo de cáncer (4,5).

En México, el chile (*Capsicum annuum*) es una hortaliza de uso tradicional en la dieta, por lo que se considera que el aporte de vitamina A es significativo. En la encuesta realizada en el Noroeste de México (6), el chile se encontró dentro de los veinte alimentos más frecuentemente consumidos, con un consumo habitual de 40 g/día. Más recientemente, en el estudio de Canasta de Consumo de Alimentos del Estado de Sonora (7), el chile «verde» (*Capsicum annuum* var. *Anaheim*) inmaduro ocupó el quinto lugar de las hortalizas consumidas, con un 13% de las personas encuestadas que consumieron habitualmente 16 g/día. En el estudio antes referido (7), se encontró que el 7.3% de las personas consumieron 17 g de chile seco por día, ocupando el décimo lugar de las hortalizas. Como puede observarse, es una práctica común el consumo de esta variedad de chile en su estado maduro-seco. El tiempo de almacenamiento del chile una vez seco es variable, sin embargo generalmente es consumido en los primeros meses después del secado.

El chile que se destina a ser secado, se cosecha una vez que ha empezado a madurar en la planta, posteriormente es colocado en ristra y expuesto al calor ambiental y a la luz solar. Este proceso es efectuado en los meses de Junio a Agosto, en los cuales se alcanzan temperaturas ambientales hasta de 45°C.

En el estudio realizado por Candela, y colaboradores (8) se considera que los chiles (*Capsicum annuum*) constituyen un buen modelo para el estudio de carotenogénesis durante la maduración, por la capacidad de esta hortaliza para continuar este proceso después de cosechado y por los marcados cambios cuantitativos y estructurales que suceden durante la maduración. Se encontró además que en chiles recientemente cosechados, los contenidos de β -caroteno y β -criptoxantina se incrementaron alrededor de los 30 días y posteriormente disminuyeron rápidamente. En los chiles almacenados por dos semanas (en cámara oscura a 15°C) se encontraron valores menores de estos carotenoides con respecto a los recién cosechados. Lee (9) cuantificó los cambios en el contenido de carotenoides de zanahoria durante el crecimiento y almacenamiento post-cosecha (2°C y 90% humedad relativa), encontrando un aumento lento en el contenido de equivalentes de retinol hasta los 100 días, pero disminuyendo posteriormente.

Con respecto al procesamiento de secado, los valores reportados de retención de carotenoides varían ampliamente entre estudios. Speck y colaboradores (2) encontraron un 50% de retención de β -caroteno y 49% de actividad vitamínica A en semillas de amaranto después de dos días de secado al sol. Por el contrario Desrosier y colaboradores (10) encontraron que

los carotenos se retuvieron completamente (>100%) durante la deshidratación casera de chiles (Bell var. USA).

Debido a que los carotenoides presentan diferente actividad biológica es necesario cuantificarlos separadamente para conocer su aporte real de vitamina A. Mejía y colaboradores (22) han sugerido reevaluar los datos de carotenoides y vitamina A de vegetales en las tablas de composición de alimentos, utilizando metodologías capaces de separar y cuantificar estos compuestos y considerando la forma habitual de consumo.

Con el presente estudio se aporta información sobre los cambios en los carotenoides precursores de vitamina A (α -, β -, gama-caroteno y α -criptoxantina) en chile «verde» (*Capsicum annuum* var. *Anaheim*) durante la maduración y secado, separados y cuantificados por cromatografía de líquidos de alta resolución.

MATERIALES Y METODOS

Metodología

La descripción de los reactivos, preparación de las soluciones estándar, la preparación de la muestra, se describió en el artículo publicado por Mejía y colaboradores (11). En donde se utilizó un cromatógrafo de líquidos de alta resolución Varian 5000 con detector de longitud de onda variable (Varian UV-50) y estación integradora de datos (Vista CDS 401) (Varian Instrument Division, Palo Alto CA). El sistema consistió en una precolumna Whatman (2.1 mm diámetro interno x 7 cm de longitud) con empaque pelicular ODS-RPC18 de tamaño de partícula 5 μ m (Whatman Inc. Clifton N.J.) y una columna Novapack C18 (3.9 mm diámetro interno x 15 cm de longitud) (Waters Associates, Milford, M.A.) empacada con el mismo material. El sistema de solventes empleado fue una mezcla de acetonitrilo/ metanol/ tetrahidrofurano (THF) (58v:35v:7v) a un flujo de 1 mL/min. Los análisis se llevaron a cabo entre 25 y 30°C y la detección se hizo a 458 nm. La muestra fue introducida con una válvula *Rheodyne* 7125 (Rheodyne Inc, Cotati Ca, USA) equipado con un reservorio externo de 10 μ L.

Procedimiento de muestreo

Aunque la muestra fue adquirida en un mercado local (Hermosillo, Sonora), se obtuvo información acerca de su procedencia. La muestra consistió en siete kilogramos de chile «verde» (*Capsicum annuum* var. *Anaheim*) (Figura 1) que fueron cosechados en el mes de Junio en un campo agrícola de Ciudad Obregón, Sonora, un día antes de la compra. Todas las muestras se encontraban en estado inmaduro y se dejó madurar y secar, atendiendo a la forma habitual en que este proceso es llevado a cabo, esto es a la intemperie y sin protección contra la luz y calor. Las determinaciones de carotenos se efectuaron los días 1, 3, 5, 7, 11, 14, 16 y 18 después de cosechado.

FIGURA 1
Chile "verde" (*Capsicum annuum* var. *Anaheim*)

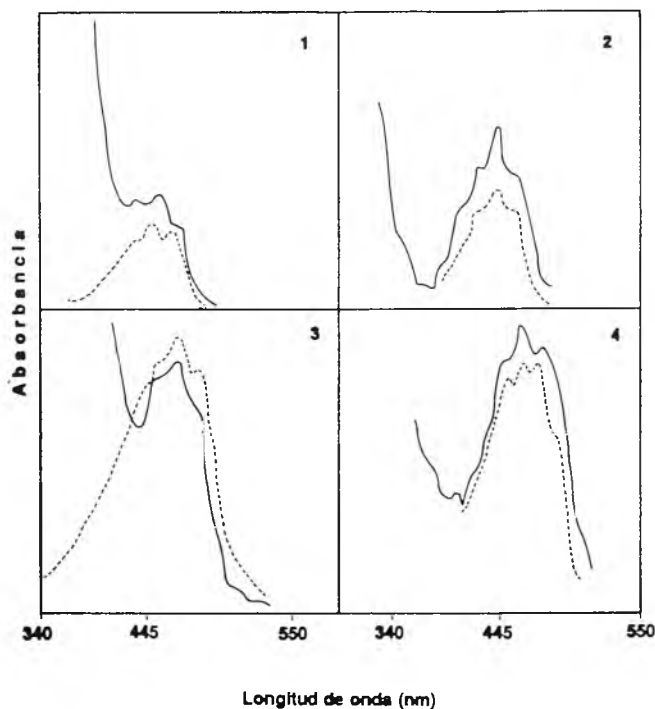


Identificación de los picos cromatográficos

Los picos de los carotenoides de las muestras fueron analizados cualitativamente por: a) los tiempos de retención obtenidos con estándares por cromatografía de líquidos; b) técnica de adición de estándar a las muestras y (c) colección de las fracciones correspondientes a los picos de interés del cromatograma. Se evaporó el solvente bajo atmósfera de nitrógeno y en obscuridad, las fracciones secas se reconstituyeron en aproximadamente 2 mL de THF, se determinó el espectro de absorción en un rango de 550 nm a 340 nm (Espectrómetro Perkin Elmer Lambda 3A UV/VIS; Perkin Elmer, Norwalk, CT) y finalmente se comparó con su estándar correspondiente, sometido al mismo tratamiento (Figura 2).

FIGURA 2

Espectros de absorción de 1) α caroteno, 2) β -criptoxantina, 3) β -caroteno y 4) gama-caroteno en THF de chile "verde" (*Capsicum annuum* var. *Anaheim*) (—) y los estándares correspondientes (-----).



Análisis de datos

La actividad vitamínica A se calculó como equivalente de retinol de acuerdo a las normas establecidas por la Organización Mundial de la Salud (WHO) (12), dividiendo los contenidos de β -caroteno entre seis y la suma de α -, gama-carotenos y β -criptoxantina entre doce; sumando posteriormente estos valores para obtener los equivalentes de retinol totales. Los porcentajes de recomendación dietética, se calcularon en base a las recomendaciones de las «Metas nutricionales y guías de alimentación para América Latina» (13).

Los datos fueron analizados mediante un análisis de varianza de un factor, para comparar los estados de maduración y se aplicó la prueba de rango múltiple de Tukey, cuando se encontraron diferencias. La velocidad de síntesis se obtuvo calculando las pendientes en el intervalo del comportamiento lineal de las curvas del contenido de carotenoides ($\mu\text{g/g}$) con respecto al tiempo (días). Para comparar las pendientes de las curvas de síntesis de los carotenos individuales se aplicó el análisis de covarianza (14).

RESULTADOS Y DISCUSION

Efecto de la maduración sobre el contenido de carotenoides

Los compuestos eluyen en la columna separadamente, en base a sus diferencias en polaridades, de tal forma que los que salen primero y absorben a 458 nm corresponden a los de mayor polaridad, principalmente xantofilas.

En los extractos de chile inmaduro (Figura 3a) se identificaron solamente los picos correspondientes a β -, α -caroteno y clorofila b, que eluye junto con β -criptoxantina haciendo difícil su cuantificación, esto no es muy importante ya que los contenidos de β -criptoxantina en las primeras etapas de maduración son muy bajos (11).

Los cromatogramas de chile maduro y maduro-seco (figuras 3b y 3c) muestran además la aparición de otros picos correspondientes a carotenoides que han sido sintetizados «*de novo*» en la planta después de cosechados. Entre los picos encontrados se identificaron gama-caroteno (11.5 min) y β -criptoxantina (4.5 min) que al desaparecer la clorofila b con la maduración y el incremento por la síntesis, se hace posible su identificación y cuantificación.

En la Figura 4, se presenta un cromatograma de la separación de los estándares puros y los tiempos de retención obtenidos en el sistema: β -criptoxantina, gama-caroteno, α -caroteno y β -caroteno.

En la Tabla 1 se presenta la actividad vitamínica A total, calculada a partir de los carotenoides individuales, donde se encontraron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los estados de maduración, y estas diferencias se mantuvieron al expresarse en base seca. Considerando la actividad vitamínica A total de chile maduro-seco (3103 $\mu\text{gER}/100\text{g}$) y su consumo habitual (17 g/día = 1 cucharada) (7) se cubre el 53% de la recomendación para un hombre adulto (18-65 años) y hasta el 83% para una mujer en el mismo rango de edad (13).

Los contenidos de los carotenoides individuales fueron estadísticamente diferentes ($p < 0.05$) entre el chile inmaduro y maduro, lo cual es de esperarse ya que después de cosechados

los vegetales continúan los procesos de maduración, de los cuales la carotenogénesis no es la excepción (8).

FIGURA 3

Cromatogramas típicos de extractos de chile (a) inmaduro, (b) maduro y (c) maduro-seco. 1) β -criptoxantina (4.2 min); 2) γ -caroteno (11.5 min); 3) α -caroteno (14.5 min) y 4) β -caroteno (15.5 min). Las condiciones cromatográficas están descritas en el texto

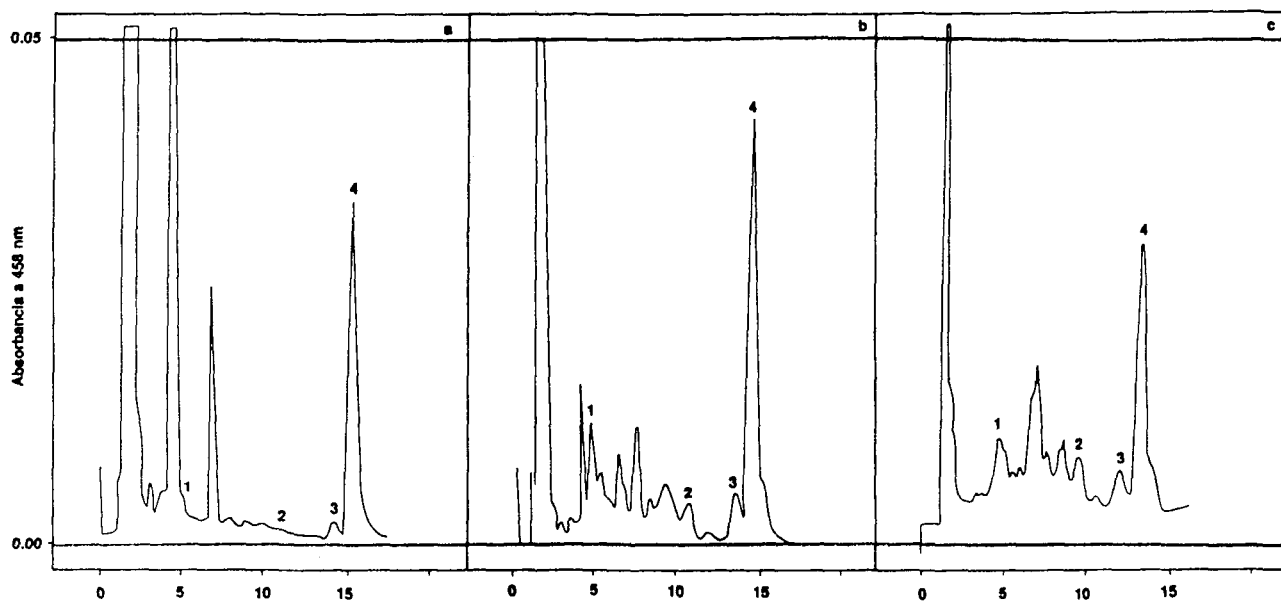
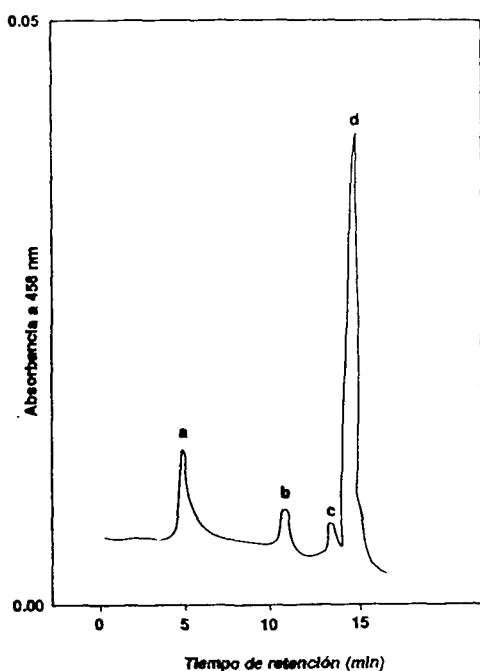


FIGURA 4

Separación de los estándares de carotenoides a) β -criptoxantina, b) γ -caroteno, c) α -caroteno y d) β -caroteno. Columna: Novapack C18; Fase móvil: acetonitrilo/metanol/tetrahidrofurano (58v/35v/7v); Flujo: 1 mL/min; Presión: 30 atm; Temperatura: 27°C.



Curva de síntesis de carotenoides durante la maduración y secado

El contenido máximo alcanzado en los niveles de carotenoides se observó a los 14 días después de cosechado, los valores obtenidos fueron 26.3 ± 1.9 , 24.4 ± 2.3 y 170.9 ± 22 $\mu\text{g/g}$ peso seco, para β -criptoxantina, α -caroteno y β -caroteno respectivamente (Figura 5). Para γ -caroteno se observaron aumentos hasta el quinto día después de la cosecha (14.0 ± 2.0 $\mu\text{g/g}$ peso seco), permaneciendo estable hasta el noveno día, a partir de este tiempo no fue detectable (límite de detección = 0.001 mg/mL) (Figura 5).

La velocidad de síntesis se obtuvo calculando las pendientes en el intervalo del comportamiento lineal de las curvas del contenido de carotenoides ($\mu\text{g/g}$) con respecto al tiempo (días) (Figura 5). Dado a que se tienen cuatro grupos de datos correspondientes a cada carotenoide, y además calculadas sus ecuaciones de regresión lineal simple, se compararon las pendientes de las regresiones, mediante un análisis de covarianza para probar la homogeneidad de pendientes. Se encontraron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre la pendiente de la curva de síntesis de β -caroteno y las de β -criptoxantina, α - y γ -caroteno. Con esto se obtuvo que β -caroteno se sintetiza a una razón de 13.4 $\mu\text{g/g/día}$, mientras que β -criptoxantina, α - y γ -caroteno, se sintetizan a 2.04, 2.4 y 1.8 $\mu\text{g/g/día}$ respectivamente.

TABLA 1
CONTENIDO DE CAROTENOIDES Y ACTIVIDAD VITAMINICA A TOTAL EN TRES ESTADOS DE MADURACION DE CHILE "VERDE" (*CAPSICUM ANNUUM VAR. ANAHEIM*)

	β-criptoxantina		Gama-caroteno		α-caroteno		β-caroteno		Actividad vitamínica A Total	
	μg/100 g	μg/g PS ¹	μg/100g	ug/g PS	μg/100g	ug/g PS	μg/100g	μg/g PS	μg ER/100g	μg ER/gPS
Verde ²	ND ³	ND	ND	ND	28.5 ^a	3.6 ^a	436.4 ^a	55.7 ^a	75.4 ^a	7.2 ^a
					±4.0	±0.5	±7.2	±4.0	±5.8	±0.8
Maduro ²	184.5 ^a	16.2 ^a	80.7 ^a	7.1 ^a	118.9 ^b	10.4 ^b	1239.3 ^b	108.8 ^b	310.2 ^b	51.1 ^b
	±17.1	±1.5	±14.9	±1.3	±8.3	±0.8	±51.9	±4.6	±52.7	±2.4
Maduro Seco ²	1655.5 ^b	19.7 ^b	3260.1 ^b	36.6 ^b	2434.6 ^c	26.4 ^c	15210.1 ^c	169.8 ^c	3102.9 ^c	55.3 ^c
	±329.0	±2.1	±1047.0	±11.7	±234.1	±1.2	±406.4	±4.8	±11.0	±1.2

1 PS= Peso Seco

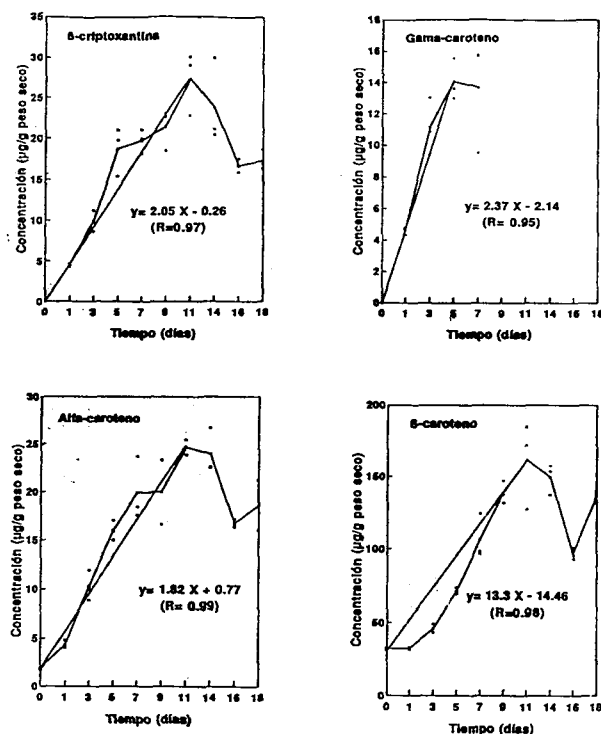
2 Cada dato representa X ±D.E. de tres detrmnaciones por triplicado (9 inyecciones).

3 ND=No Detectable (límite de detección 0.001 mg/mL)

a-c Las medidas con diferente superíndice en cada columna, son significativamente diferentes (p<0.05)

FIGURA 5

Variación en el contenido de carotenoides en chile verde (*Capsicum annuum var Anaheim*) durante la maduración y secado



Estos resultados concuerdan con los estudios de Desrosier y colaboradores (10), ya que encontraron incremento en el contenido de carotenoides en chile (Bell var. USA). De igual forma, Candela y colaboradores (8) observaron este comportamiento; sin embargo encontraron valores más bajos en los chiles almacenados. Es importante resaltar que el análisis en el estudio mencionado anteriormente se realizó después de dos semanas de almacenamiento y fue precisamente en este período de tiempo (14 días) en el que se observó el inicio en la disminución de los carotenoides en el presente estudio.

Con los resultados del estudio puede concluirse que durante la maduración el chile verde (*Capsicum annuum var. Anaheim*) sigue la síntesis de carotenoides. Las condiciones de secado permiten que ésta continúe, lo cual puede deberse a que el chile contiene además de los carotenoides hidrocarbonados, las xantofilas (oxigenados) (11) que son más susceptibles a la oxidación, sufriendo más pérdidas en estas que en los carotenoides hidrocarbonados (15).

Por otro lado Desrosier y colaboradores (10) señalan que la presencia de antioxidantes naturales (vitamina C) previenen la degradación oxidativa de carotenos en chiles. Bradley (16) reportó 110 mg/100g (base húmeda) de vitamina C en chiles (*Capsicum*) considerándolo como una buena fuente de esta vitamina.

Los valores para vitamina A en chile, reportados en las tablas de composición de alimentos están sobreestimados

(11), ya que las técnicas colorimétricas usadas anteriormente, no son capaces de diferenciar los carotenoides con actividad biológica. Con el uso de la cromatografía líquida de alta resolución, en este estudio se separaron, identificaron y cuantificaron los principales carotenoides precursores de vitamina A durante la maduración y secado de chile verde (*Capsicum annum* var *Anaheim*) la cual es la principal forma en que esta variedad de chile se consume en el noreste de México. Estos resultados son importantes para contribuir a mejorar las bases de datos sobre composición de alimentos, objetivo de INFOODS (International Network of Food Composition Data) y de su grupo regional LATINFOODS.

AGRADECIMIENTOS

Este proyecto fue realizado bajo el patrocinio de la Secretaría de Educación Pública (SEP).

Se agradece a Productos Roche de México, S.A. por proporcionar los estándares de β -criptoxantina y gamma-caroteno. A José Antonio Ponce por la elaboración del material gráfico.

REFERENCIAS

- Goddwin TW. Metabolism, Nutrition and Function of Carotenoids. *Ann Rev Nutr.* 6:273. 1986.
- Speek A.J., Speek-Saichua S & Schreurs WHP. Total Carotenoid and β -Carotene Contents of Thai Vegetables and the Effect of Processing. *Food Chem* 27:245. 1988.
- Simpson K. Relative value of carotenoids as precursors of vitamin A. *Proc Nutr Soc* 42:7. 1983.
- Stähelin HB., Gey Kf, Eichholzer M & Lüdin E. Carotene and cancer prevention: the Basel Study. *Am J Clin Nutr.* 53:265S. 1991.
- Ziegler RG. Vegetables, fruits, and carotenoids and the risk of cancer. *Am J. Clin Nutr* 53:251S. 1991.
- Valencia ME, Jardines RP, Noriega E., Cruz R., Grijalva I., Peña C. The use of 24 hour recall data from nutrition surveys to determine food preference, availability and food composition baskets in populations. *Nutr Rep Int* 28:815. 1983.
- Valencia ME., Hoyos LC, Ortega MI, Palacios MR, Atondo JL, Ballesteros MN y Juver F. Canasta de consumo de Alimentos del Estado de Sonora. Reporte técnico DN-91-02. 1991.
- Candela ME., López M & Sabater F. Carotenoids from *Capsicum annum* fruits: changes during ripening and storage. *Biología Plantarum* 26:410-414. 1984.
- Lee CY. Changes in carotenoid content of carrots during growth and post-harvest storage. *Food Chem* 20:285-293. 1986.
- Desrosiers T., Smyrl TG & Paquette G. Retention of carotene in green peppers and peaches after a home dehydration process. *Can Inst. Food Sci Technol* 18: 144-149. 1985.
- Mejía LA, Hudson E. de Mejía E. & Vazquez FA. Carotenoid content and vitamin A activity of some common cultivars of mexican peppers (*Capsicum annum*) as determined by HPLC. *J Food Sci* 53:1448-1451. 1988.
- WHO. Organización Mundial de la Salud. Carencia de vitamina A y xeroftalmía Serie de Informes Técnicos N° 590, pag. 12. Ginebra, Suiza. 1976.
- Bengoia JM., Torún B., Béhar M. & Scrimshaw NS. Metas nutricionales y guías de alimentación para América Latina. Bases para su desarrollo. *Arch Latinoamer Nutr.* 38:402. 1988.
- Zar J. Biostatistical Analysis. Second ed. Prentice Hall, Englewood Cliffs NJ. pag: 163, 186, 263, 292. 1984.
- Khachif F & Beecher GR. Rebuttal on quantification of major carotenoids in raw fruits and vegetables by HPLC. *J Agric Food Chem* 35:850. 1987.
- Bradley GA. Fruits and Vegetables as World Sources of Vitamin A and C. *HortScience* 7:3. 1972.

Recibido: 29-03-1993

Aceptado: 07-02-1994

Clasificación de mieles comerciales venezolanas*

Patricia Vit¹, Isbelia González de Martorelli¹ y Santiago López-Palacios²

Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.

RESUMEN. La selección de mieles comerciales para realizar el presente estudio, respondió al interés de conocer la calidad de las mieles disponibles en el mercado nacional, para lo cual se separaron en clases progresivas en base a sus características organolépticas y físico-químicas. Durante los años 1985-1987, se recolectaron 500 muestras de miel en todo el territorio nacional. La evaluación sensorial permitió reconocer 13.4% de las mieles muestreadas como fraudes y 86.6% como mieles genuinas. La comparación de los resultados obtenidos siguiendo los métodos indicados en la norma COVENIN 2136-84, con los estándares nacionales para miel de abejas (COVENIN 2191-84) permitió reconocer sólo 40.2% de las mieles genuinas como no alteradas, el resto de las mieles falló en cumplir los requisitos establecidos para humedad (39.8%), acidez total (25.5%) hidroximetilfurfural (43.2%) y diastasa (34.0%). Los fraudes no cumplieron los requisitos establecidos para la diastasa y el hidroximetilfurfural (HMF). Los valores elevados de acidez y de cenizas en mieles genuinas con un solo parámetro alterado, indican la necesidad de revisar estos requisitos en la norma nacional. Se recomienda determinar el contenido de nitrógeno por microkjeldahl para la detección de fraudes.

SUMMARY. Classification of commercial honeys in Venezuela. Commercial honeys were analysed to study their quality in the Venezuelan market and were grouped in progressive classes according to their organoleptical and physico-chemical characteristics. For that purpose, 500 honey samples were collected in 1985-1987 in different locations of Venezuela. By sensorial evaluation, 13.4% of the samples were recognized as honey frauds and 86.6% as genuine honey. The analytical results were compared with the standards established in the Venezuelan regulation for honey (COVENIN 2191-84), and 59.8% of the genuine honeys were found to be altered because they failed to fulfil the requirement for moisture content (39.8%), reducing sugars (11.2%), sucrose (17.4%), ash (31.7%), total acidity (25.5%), hydroxymethylfurfural (43.2%) and diastase (34.0%). Honey frauds never fulfilled the requirements for hydroxymethylfurfural and diastase. The high values found for acidity and ash content in genuine honeys with only one altered characteristic, reveal the need to review the established requirements in the national regulation for honey. It is suggested to use the nitrogen content of honey to detect honey frauds in Venezuela.

INTRODUCCION

En la Norma Regional Europea para Miel elaborada por la Comisión del Codex Alimentarius en 1969 (1), la miel de abejas se define como «la sustancia dulce producida por las abejas obreras a partir del néctar de las flores o exudaciones de otras partes vivas de las flores o presentes en ellas, que dichas

abejas recogen, transforman y combinan con sustancias específicas y almacenan después en panales».

Es conveniente recalcar que la miel de abejas es un producto biológico muy complejo, cuya composición varía notablemente dependiendo de la flora visitada y de las condiciones climáticas y edafológicas del lugar donde se produce (2, 3, 4); esta gran diversidad constituye una permanente dificultad analítica para el control de calidad de las mieles ya que se trata de un producto natural (5).

Podría decirse que en Venezuela se venden básicamente dos tipos de miel de abejas: la genuina y los fraudes de ella; esto representa un problema por cuanto la elaboración del fraude se está perfeccionando cada vez más, mientras la actividad apícola en el país está confrontando problemas de índole diversa que no permiten su pleno desarrollo y mantiene baja la producción de miel. El desconocimiento generalizado

* Proyecto parcialmente financiado por el Consejo de Desarrollo Científico, Humanístico y Tecnológico de la Universidad de Los Andes.

1 Dpto. Ciencia de los Alimentos. Facultad de Farmacia. Universidad de Los Andes, Mérida.

2 Dpto. Farmacognosia y Medicamentos Orgánicos. Facultad de Farmacia. Universidad de Los Andes, Mérida.

de este producto de la colmena, junto con su alta demanda y el insuficiente control por parte de las autoridades sanitarias, son los factores que permiten al productor de fraudes colocar fácilmente su producto en el mercado. Dado que la miel de abejas es un producto medicinal por sí solo, y también ingrediente de numerosos medicamentos populares (6, 7, 8, 9, 10), sus fraudes representan además un peligro para la salud de quienes los consumen.

En 1984, la Comisión Venezolana de Normas Industriales elaboró las primeras normas nacionales para control de calidad de miel de abejas (11,12), las cuales representan la base científico-técnica para el control de calidad y el control de fraudes de miel de abejas en Venezuela. En estas normas se incluyen únicamente análisis físico-químicos, que desde luego deberían estar complementados por otro tipo de análisis como la evaluación sensorial (13) y el análisis melitopalínológico para orientar su origen botánico y geográfico (14, 15, 16, 17).

La selección de muestras comerciales para realizar el presente estudio, respondió al interés de conocer la calidad de las mieles disponibles en el mercado nacional. Al plantear la clasificación de las mieles comerciales venezolanas se pretendió: 1. Desarrollar un estudio descriptivo en base a sus características organolépticas y físico-químicas. 2. Separar las mieles estudiadas en tipos y clases, utilizando algún criterio práctico. 3. Contribuir a una posible revisión de los requisitos establecidos en las normas oficiales para control de calidad de miel de abejas (12), ya que cuando se elaboraron no se contaba con suficientes datos experimentales del producto nacional.

MATERIAL Y METODOS

Se recolectaron 500 muestras de miel de abejas producidas y comercializadas en el país, durante el período 1985-1987. Para obtener tal cantidad de muestras, se visitaron diversas regiones del país en busca del dulce alimento, que además de ser vendido por los propios apicultores, generalmente es comercializado en mercados, supermercados, tiendas naturistas, abastos y a orillas de la carretera; también se consiguió en farmacias, fruterías, fuentes de soda, estaciones de servicio y ferreterías. Las mieles adquiridas fueron líquidas o cristalizadas en su mayoría, pero también hubo muestras en trozos o en panal, las cuales debieron ser prensadas y coladas en el laboratorio para su extracción. Las mieles así recolectadas fueron rotuladas oportunamente y se tomó de cada una de ellas una muestra para análisis, la cual se conservó en un envase de vidrio con tapa de bakelita a temperatura ambiente y en la oscuridad hasta su análisis.

El color de las mieles se evaluó de manera cualitativa mediante la comparación de las mieles colocadas en envases transparentes de idéntico tamaño y los colores de una escala elaborada para tal fin (18), lo cual permitió asignar valores de 1 al 15, donde los valores más bajos corresponden a los colores más claros de la gradación ámbar, y los valores 14 y 15 a colores brillantes diferentes al ámbar. La determinación del sabor dominante se realizó tomando aproximadamente 1g de

miel en una cucharita plástica, para colocarla en la boca y se paladeó con la lengua durante el tiempo necesario para decidir cual de los seis sabores básicos amargo, salado, ácido, dulce, picante y astringente (7) se percibía con mayor intensidad. Entre las diversas muestras se tomó agua para limpiar la boca. En caso de duda se repetía la experiencia. La evaluación presuntiva de fraudes se realizó por medio de una evaluación olfativa y gustativa, la cual condujo a un reconocimiento de fraude cuando se detectó el típico olor y sabor de chupeta o de caramelo que presentan los fraudes nacionales de miel de abejas. La evaluación olfativa consistió en oler el contenido del envase donde se conservó la muestra, en el momento de destaparla para determinar el sabor dominante.

Además de realizar los análisis de contenido de humedad, acidez, cenizas, azúcares reductores, sacarosa, hidroximetilfurfural (19) y actividad de la diastasa, descritos en la norma COVENIN 2136-84 (11), también se determinó el contenido de nitrógeno por microkjeldahl (2). Se utilizaron escalas de colores, para las determinaciones del contenido de hidroximetilfurfural y de la actividad de la diastasa (18), a fin de asignar los resultados de positivo o negativo que se indican en la norma COVENIN 2191-84 para este tipo de análisis.

Los resultados obtenidos en los distintos análisis, fueron tratados estadísticamente empleando la media, el error estándar y el rango de variación como indicadores de centramiento y dispersión. El análisis de significancia estadística se realizó mediante el análisis de varianza por una vía (21) para todos los parámetros, y las medias obtenidas para los distintos tipos de miel se compararon por los rangos múltiples de Duncan (22); en estos análisis se fijó el nivel de significancia en 5%.

RESULTADOS Y DISCUSION

Tipos de miel

Las mieles recolectadas fueron reconocidas por evaluación sensorial como miel de abejas genuina o fraude. Las mieles genuinas se consideraron no alteradas si cumplían todos los requisitos establecidos en la norma COVENIN 2191-84 (12) o alteradas si fallaban al menos en un requisito; estos requisitos se muestran en la Tabla 1 junto con la composición promedio y los rangos de variación obtenidos para cada parámetro de calidad en los distintos tipos de miel (fraude, genuina alterada y no alterada) y los resultados obtenidos al practicar el análisis de varianza. Puede apreciarse que existen diferencias significativas entre los tres grupos respecto a su porcentaje de humedad, desacarosa, contenido de HMF, actividad de la diastasa y contenido de nitrógeno. No se encontraron diferencias significativas entre el grupo de fraudes y el de mieles no alteradas, para el porcentaje de cenizas y la acidez, y tampoco entre el grupo de fraudes y el de mieles alteradas, para el contenido de azúcares reductores. Los rangos de variación obtenidos dentro de cada grupo, resultaron muy amplios, especialmente para la acidez y el porcentaje de nitrógeno, seguidos por el porcentaje de azúcares reductores, el de humedad y el de sacarosa.

TABLA 1
COMPOSICION PROMEDIO Y RANGOS DE VARIACION DE LOS TRES TIPOS DE MIEL

Componente	Requisito COVENIN	TIPO DE MIEL		
		Fraude	Alterada	No alterada
% Humedad	max. 20.0	15.84±0.28 ^a (9.2 - 21.5)	20.30±0.23 ^b (15.7 - 35.7)	17.93±0.08 ^c (14.9 - 20.0)
% Azúcares reductores	min. 65.0	72.68±1.56 ^a (39.45 - 87.62)	71.76±0.50 ^b (27.87 - 87.15)	75.65±0.20 ^c (68.91 - 84.68)
% Sacarosa	max. 5.0	11.99±1.56 ^a (0.45 - 42.69)	2.88±0.23 ^b (0.11 - 24.99)	1.74±0.09 ^c (0.00 - 4.73)
% Cenizas	min. 0.5	0.23±0.02 ^a (0.06 - 1.06)	0.41±0.02 ^b (0.04 - 1.94)	0.24±0.01 ^a (0.04 - 0.48)
Acidez (meq/kg)	max. 40.0	22.45±1.20 ^a (2.93 - 108.10)	45.46±3.21 ^b (10.73 - 560.35)	25.12±0.52 ^a (9.75 - 39.01)
Hidroximetilfurfural ¹	negativo	6.13±0.14 ^a (3 - 7)	2.51±0.19 ^b (1 - 7)	1.40±0.04 ^c (1 - 2)
Diastasa ²	positiva	5.00±0.00 ^a (5 - 5)	3.39±0.06 ^b (1 - 5)	2.72±0.04 ^c (1 - 3)
% Nitrógeno (mg/100g)	—	7.71±0.52 ^a (0.00 - 23.32)	78.80±2.81 ^b (25.49 - 370.69)	61.62±1.83 ^c (25.37 - 270.89)

Cada resultado corresponde al promedio ± error estándar de los valores obtenidos en cada grupo. Los valores que no comparten igual letra en la misma horizontal, son significativamente diferentes con $\alpha=0.05$. Los rangos de variación están entre paréntesis.

1 Asignados según la escala hedónica elaborada por Vit (18).

Debido a la gran diversidad encontrada en las muestras de miel analizadas, se consideró conveniente publicar los resultados individuales de las mismas para conservar información de interés respecto a sus características particulares (23); ello se revela de gran utilidad para el analista porque presenta numerosas combinaciones entre los valores de los distintos parámetros analizados y además representa un archivo abierto y ordenado utilizable con fines comparativos.

En la Tabla 2, se presentan los porcentajes de los distintos tipos de miel según el lugar de producción. Puede apreciarse que el número de muestras es muy variable dependiendo del origen geográfico, ello se debió a la diferente disponibilidad del producto en el mercado. El 13.4% de fraudes encontrado no corresponde a un estudio de su abundancia en volumen sino a su presencia en las localidades visitadas. Llama la atención que entre las mieles genuinas, más del 50% de las muestras

resultaron alteradas, lo cual puede reflejar fallas tecnológicas durante el procesamiento o inclusive fallas de adecuación de los requisitos establecidos en la norma nacional para control de calidad de miel de abejas (12). En la Tabla 3 se indican los porcentajes no cumplidos por los fraudes y por las mieles alteradas para cada requisito. Puede apreciarse que los fraudes nunca cumplieron los requisitos establecidos para el HMF y la diastasa, los cuales también presentaron problemas para las mieles genuinas debido al calentamiento no controlado al que se someten para mantenerlas líquidas durante su comercialización. Los elevados contenidos de humedad, cenizas y acidez fueron fallas más frecuentes en las mieles genuinas que en los fraudes; mientras que se observó lo contrario para el contenido de azúcares reductores y de sacarosa.

TABLA 2
PROPORCION ENTRE FRAUDES Y MIELES GENUINAS SEGUN SU LUGAR DE PRODUCCION

Lugar de Producción	Fraudes %	Mieles Genuinas %		n
		Alteradas	No alteradas	
Dtto. Federal	0.0	0.0	100.0	1
Anzoátegui	16.7	58.3	25.0	12
Apure	0.0	100.0	0.0	12
Aragua	13.0	60.9	26.1	23
Barinas	13.6	54.5	31.9	22
Bolívar	0.0	61.3	38.7	31
Carabobo	2.5	40.0	57.5	330
Cojedes	0.0	40.9	59.1	22
Falcón	10.0	86.7	3.3	30
Guárico	12.5	81.3	6.2	16
Lara	29.4	29.4	41.2	17
Mérida	26.7	41.9	31.4	86
Miranda	0.0	66.7	33.3	6
Monagas	5.4	43.2	51.4	37
Nueva Esparta	0.0	100.0	0.0	8
Portuguesa	20.0	36.0	44.0	25
Sucre	5.3	63.2	31.5	19
Táchira	18.5	55.6	25.9	54
Trujillo	0.0	37.5	62.5	8
Yaracuy	33.3	14.3	52.4	21
Zulia	0.0	100.0	0.0	1
TFA	0.0	37.5	62.5	8
TFDA	0.0	100.0	0.0	4
n	67	259	174	500
%	13.4	51.8	34.8	

TABLA 3
PROPORCION DE FRAUDES Y MIELES ALTERADAS QUE NO CUMPLEN CON CADA UNO DE LOS REQUISITOS COVENIN PARA MIELES

Parámetros	Fraudes %	Mieles Alteradas %
Humedad, %	4.5	39.8
Azúcares Reductores, %	22.4	11.2
Sacarosa, %	64.2	17.4
Cenizas, %	6.0	31.7
Acidez (meq/kg)	7.5	25.5
HMF	100.0	43.2
Diastasa	100.0	34.0

Es interesante hacer resaltar el número de requisitos no cumplidos por determinada muestra de miel, ello se muestra en la Tabla 4. Si bien los fraudes nunca fallaron en un solo requisito, sino mayormente en tres, las mieles genuinas alteradas fallaron mayormente en un solo requisito; esta observación permite orientar la interpretación de los resultados por el analista.

TABLA 4
PROPORCION DE FRAUDES Y MIELES ALTERADAS QUE NO CUMPLEN CON n REQUISITOS COVENIN PARA MIELES

Requisitos no cumplidos	Fraudes %	Mieles Alteradas %
1	0.0	44.4
2	31.3	25.5
3	44.8	19.9
4	44.8	18.9
5	4.5	1.9

Las mieles genuinas que tienen un solo defecto resultan de especial interés porque no se sabe si efectivamente son defectuosas o si resultan perjudicadas por ser evaluadas con normas cuyos requisitos deban adecuarse mejor al producto nacional. En la Tabla 5 se indica el porcentaje de alteración para cada uno de los parámetros defectuosos encontrados en las mieles genuinas con un solo defecto. Llama la atención que haya mieles con elevado contenido de humedad que no haya conducido a un exceso de acidez, o con elevada acidez que no se deba a la fermentación del producto debido a su alta humedad. En 1987, Palencia (24) encontró valores elevados de acidez en mieles zulianas con bajo contenido de humedad, por lo cual sugirió que quizás las normas venezolanas no se adaptan a las características de acidez propias de nuestras mieles. También es interesante observar que ninguna miel con un solo defecto presentó un contenido menor al establecido en la norma (12) para los azúcares reductores, si bien un pequeño porcentaje presentó un contenido de sacarosa mayor. En la norma europea para mieles (1) ya se ha indicado que algunas mieles pueden contener mayor cantidad de sacarosa debido a las características del néctar utilizado por las abejas para su elaboración; igual observación es válida para justificar un mayor contenido de cenizas, el cual puede variar no sólo por el tipo de planta visitada sino inclusive por el tipo de suelo donde ésta crece. En cuanto al contenido de HMF y la actividad de la diastasa, los indicadores tradicionales del calentamiento inadecuado de las mieles y de sus condiciones de almacenamiento (25), a veces relacionados también con la edad del producto (26). Según los resultados mostrados, las alteraciones por elevado contenido de HMF fueron las más frecuentes.

TABLA 5
COMPARACION DE PARAMETROS DEFECTUOSOS
EN MIELES ALTERADAS QUE NO CUMPLEN CON
UNO SOLO DE LOS REQUISITOS COVENIN PARA
MIELES

Parámetros defectuosos	Mieles alteradas con un solo defecto	Porcentaje de alteración	
		n* = 259	n** = 113
Humedad %	24	9.3	21.3
Azúcares reductores %	0	0.0	0.0
Sacarosa %	14	5.4	12.4
Cenizas %	26	10.0	23.0
Acidez	7	2.7	6.2
HMF	32	12.4	28.3
Diastasa	10	3.9	8.9

* n = total mieles alteradas

** n = total mieles alteradas con un solo defecto

Clases de miel

Las comparaciones de los promedios y de los rangos de variación obtenidos al evaluar los parámetros de calidad en cada tipo de miel, proporciona una información global del estado de las mieles analizadas, la cual se detalló gráficamente en histogramas de frecuencia (Fig. 1-3) donde se indican las clases progresivas para cada característica organoléptica o físico-química junto con el correspondiente rango permitido en la norma COVENIN 2191-84 para miel de abejas (12).

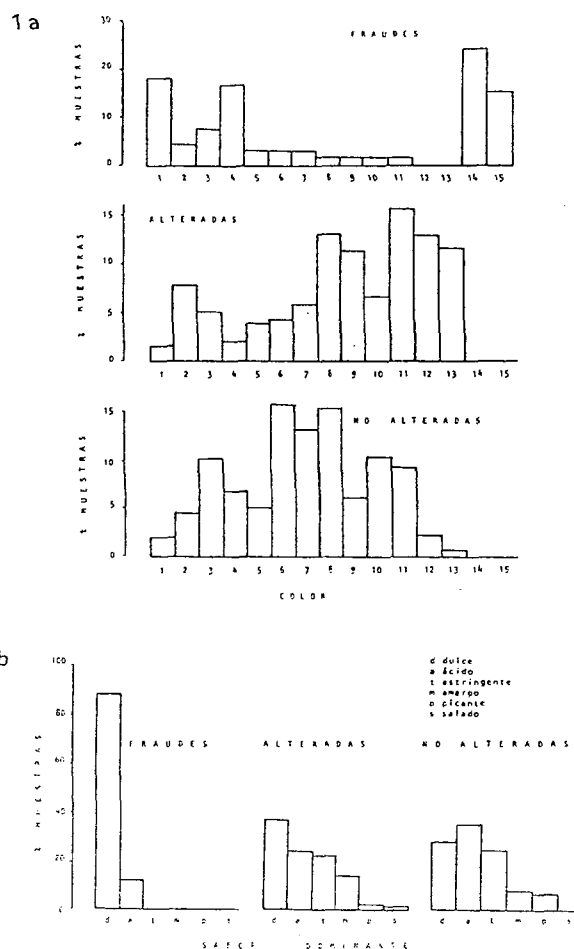
a. Evaluación sensorial

El sistema de notación específica para evaluación sensorial de mieles (13) se basa en técnicas modificadas del análisis sensorial de vinos; sin embargo, el delicado y largo trabajo de establecer parámetros precisos, simples y unívocos de caracterización sensorial para mieles, para catalogarlos en una metodología oficial de análisis, apenas se encuentra en su etapa inicial (27,28). Según este sistema, la información recibida mediante el análisis sensorial se interpreta a dos niveles, primero se aprecian los defectos del producto, y luego se evalúa su calidad; ambas apreciaciones se realizan de manera visual, olfativa, gustativa y táctil, y sólo en el marco de la clase a la cual pertenece la muestra (13); este último punto es muy importante y limitó el uso de este método para la evaluación sensorial de las mieles estudiadas, puesto que las mieles venezolanas no están clasificadas botánicamente y la notación sugerida no permite comparar mieles de distinto origen botánico. Así, en el presente trabajo se decidió evaluar únicamente el color y el sabor dominante de las mieles, además de utilizar el olor de las mismas en la evaluación presuntiva de fraudes. El color de las mieles generalmente se determi-

na con equipos especiales para tal fin, ellos son el colorímetro Pfund y el Lovibond (28), pero por carecer de los mismos, se utilizó una escala hedónica previamente elaborada (18) como se explica en la sección de material y métodos. En la Fig. 1a. puede observarse una distribución diferencial de las mieles estudiadas, según su color. Los colores 14 y 15 sólo se presentaron en los fraudes, donde también resultaron de alta frecuencia los colores 1 y 4. También se observa que los colores más oscuros son más frecuentes en las mieles alteradas que en las no alteradas; quizás esto pudiera asociarse con un oscurecimiento debido al envejecimiento de la miel, señalado por diversos autores (29, 30) y observado personalmente. Sin embargo, esta suposición no se puede comprobar porque no se conoce la edad de todas las mieles adquiridas en el mercado nacional; lo que es válido establecer es la existencia de mieles nacionales de diferentes colores.

FIGURA 1

Comparación de las clases de color¹ (a) y de sabor dominante (b) en los tres tipos de miel.



1. Para el color, se utilizó la escala hedónica elaborada por Vit. (18)

Pasando al segundo aspecto de la evaluación sensorial, que es el sabor, puede comenzarse señalando que los estímulos gustativos de la miel son variados y confusos, y que constan de uno o varios sabores fundamentales; pero también existen aromas percibidos por vía retronasal, y finalmente un gusto fuerte y por lo general desagradable que permanece después de la ingesta de la miel. El gusto de la miel está constituido por el conjunto de todos estos estímulos gustativos llamados «sensaciones de la boca» (28).

La característica del sabor dulce presentada por varias sustancias ha interesado a numerosos investigadores (31) y si bien éste es el sabor con el que generalmente se asocian las mieles, no todas ellas son dulces. De no ser por su elevada concentración de azúcares, las mieles serían demasiado ácidas para ser consumidas en forma directa; aun así, en algunas mieles el sabor ácido es más resaltante que el dulce. Poco se sabe de las sustancias responsables del resto de los sabores en las mieles, pero con los modernos métodos analíticos, esta situación debería cambiar pronto (32). En el presente trabajo se determinó el sabor dominante de cada miel, sin establecer si correspondía a un sabor característico o defectuoso de la muestra, ya que no se podía comparar con su clase botánica de referencia.

En la Fig 1b. se distribuyeron los tres tipos de miel según su sabor dominante. En general, los sabores dulce y el ácido fueron los más frecuentes, seguidos por el astringente, el amargo, el picante y el salado. Puede observarse que la mayor proporción de fraudes es dulce, lo cual era esperado por su típico sabor a chupeta o caramelo; sin embargo en una baja proporción de ellos predomina el sabor ácido. Contrariamente a lo esperado, en las mieles alteradas no predomina el sabor ácido, que podría haberse ocasionado como consecuencia de procesos fermentativos iniciados por elevados contenidos de humedad, aunque ocasionalmente se encontraron muestras intensamente ácidas. Entre las mieles no alteradas, el sabor dominante más frecuente fue el ácido, seguido del dulce y del astringente; este sabor ácido nunca llegó a ser desagradable como en algunos casos del grupo anterior, formaba parte del sabor típico de ciertas mieles producidas en Venezuela, que ha sido descrito como «muy fuerte» por expertos europeos en evaluación sensorial de mieles (33,34).

b. Análisis físico-químicos

En la Fig. 2a. se distribuyeron los tres tipos de miel en once clases según su contenido de humedad. Puede observarse que los fraudes se ubican totalmente en las clases de menor contenido de humedad, mientras que las mieles alteradas se ubican en las de mayor contenido de humedad. Los fraudes no tuvieron problemas para satisfacer este requisito, pero sí aproximadamente un 40% de las mieles alteradas; este elevado porcentaje de alteración indica la presencia de fallas tecnológicas debidas probablemente a la cosecha de mieles no maduras o a la falta de precaucio-

nes con el producto extraído y la utilización de envases no adecuadas. Las mieles no alteradas ocupan dos clases predominantemente y contienen entre 16 y 20% de humedad.

En la Fig. 2b se presentan los tres tipos de miel distribuidos en nueve clases según su contenido de cenizas. Puede apreciarse que el grupo de mieles alteradas presentó mayores problemas para cumplir este requisito, y que los tres grupos se distribuyeron uniformemente a lo largo de todo el rango permitido en la norma (12), y se ubicaron preferentemente entre 0.1 y 0.2% de cenizas.

El contenido de cenizas en las mieles, es indicador de su contenido de minerales (25), aunque actualmente se sugiere su medición por métodos más rápidos basados en determinaciones de conductividad eléctrica (35,36), los cuales podrían incluirse en la norma (11). El hecho de no disponer aun de una clasificación botánica de las mieles nacionales, no permite considerar un rango superior para los requisitos de cenizas en mieles de mielada o de otro origen floral que lo amerite, lo cual se ha revelado útil en otros países con estudios más avanzados al respecto (37); nuevamente reiteramos que este hecho puede ocasionar un aumento de mieles alteradas por no cumplir un requisito de la norma (12) que debería ser revisado.

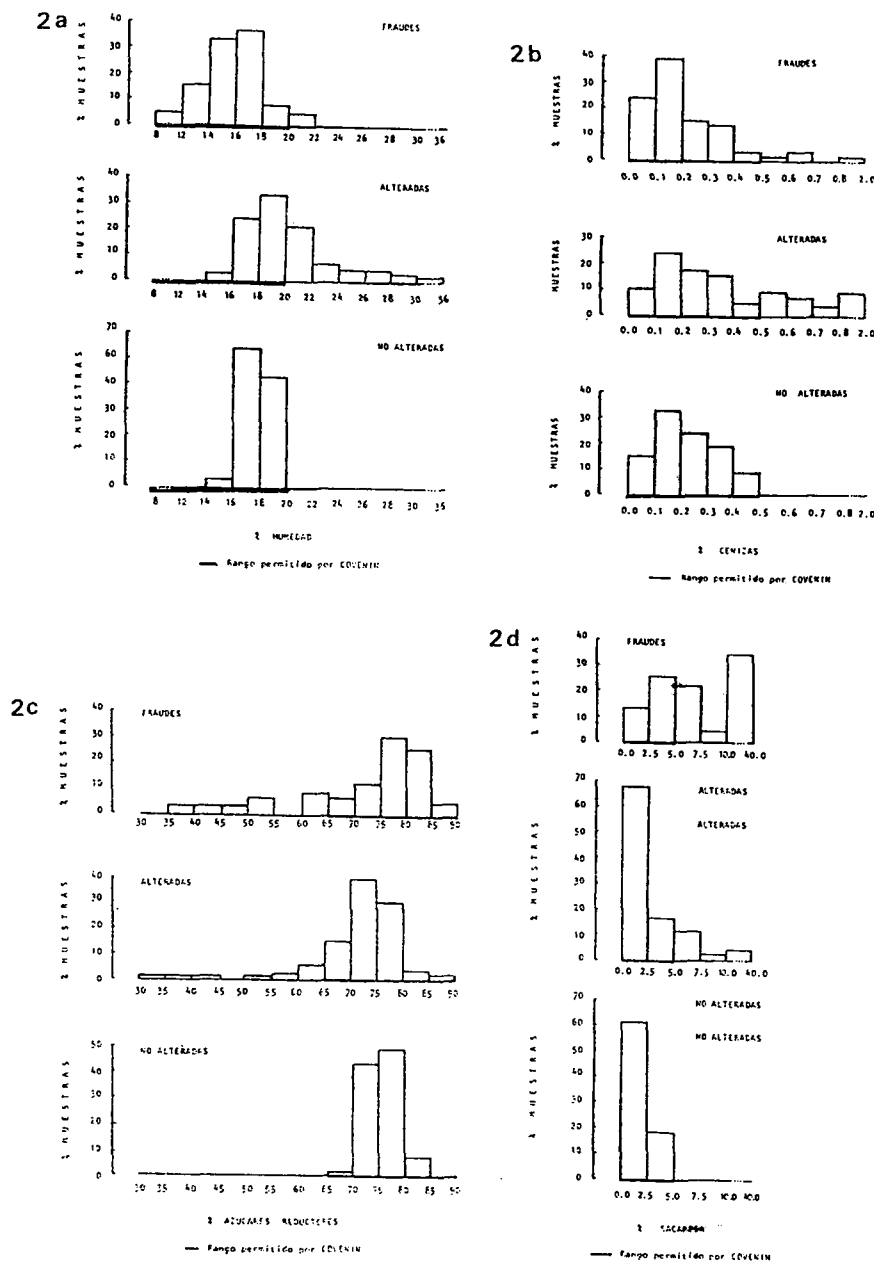
En la Fig. 2c. se distribuyeron los tres tipos de miel en doce clases según su contenido de azúcares reductores; puede apreciarse que entre los tres grupos, los fraudes presentaron mayores inconvenientes para satisfacer este requisito, pero que en su mayoría lo cumplieron muy por encima del mínimo exigido en la norma (12). Tanto las mieles alteradas como las no alteradas se ubicaron en su mayoría entre 70 y 80% de azúcares reductores. En la Fig 2d. se presentan los tres tipos de miel distribuidos en cinco clases según su contenido de sacarosa. El mayor porcentaje de fraudes que no cumplió con este requisito, se ubicó en la clase superior, con más de 10% de sacarosa. Al comparar esta figura con la anterior, puede apreciarse que el contenido de sacarosa fue un parámetro más determinante en la detección de fraudes que el contenido de azúcares reductores. Tanto las mieles alteradas como las no alteradas se ubicaron mayormente en la clase inferior, con un contenido de sacarosa inferior al 2.5%, y en menor proporción en la clase siguiente que alcanza el límite del 5.0% permitido en la norma (12).

En Estados Unidos, la adulteración de la miel con azúcar, ha sido una de las prácticas más comunes desde el siglo pasado (38), y es muy frecuente hoy día en Venezuela. Como información adicional, se conoce por fuentes populares que en la elaboración de fraudes, se prepara el «melao» con azúcar, agua, limón o vinagre, cocinados hasta obtener el «punto»; este procedimiento permite una hidrólisis ácida de la sacarosa y con ello ocasiona un mayor contenido en azúcares reductores y menor contenido en sacarosa, muchas veces suficientes para satisfacer

los respectivos requisitos establecidos en la norma (12). El conocimiento de la fracción de carbohidratos de una muestra de miel, se revela de gran utilidad para juzgar su autenticidad; sin embargo, debido a su complejidad, deben tomarse diversas consideraciones en la interpretación de los resultados obtenidos utilizando técnicas tradicionales (39). Si bien la adulteración con sacarosa podría ser relativamente simple de detectar, no lo es la adulteración con jarabes de alto contenido de fructuosa, para cuya

detección se requieren técnicas especiales (40, 41, 42, 43). Los métodos de Lane y Eynon y de Munson y Walker, que son los métodos oficiales seleccionados en nuestras normas nacionales (11), se consideran ampliamente superados por las técnicas actuales de laboratorio que proveen un espectro glucídico completo; este último reviste especial importancia tanto para la caracterización de las mieles como para la detección de fraudes (44), por lo que debería de incluirse en futuros estudios de las mieles venezolanas

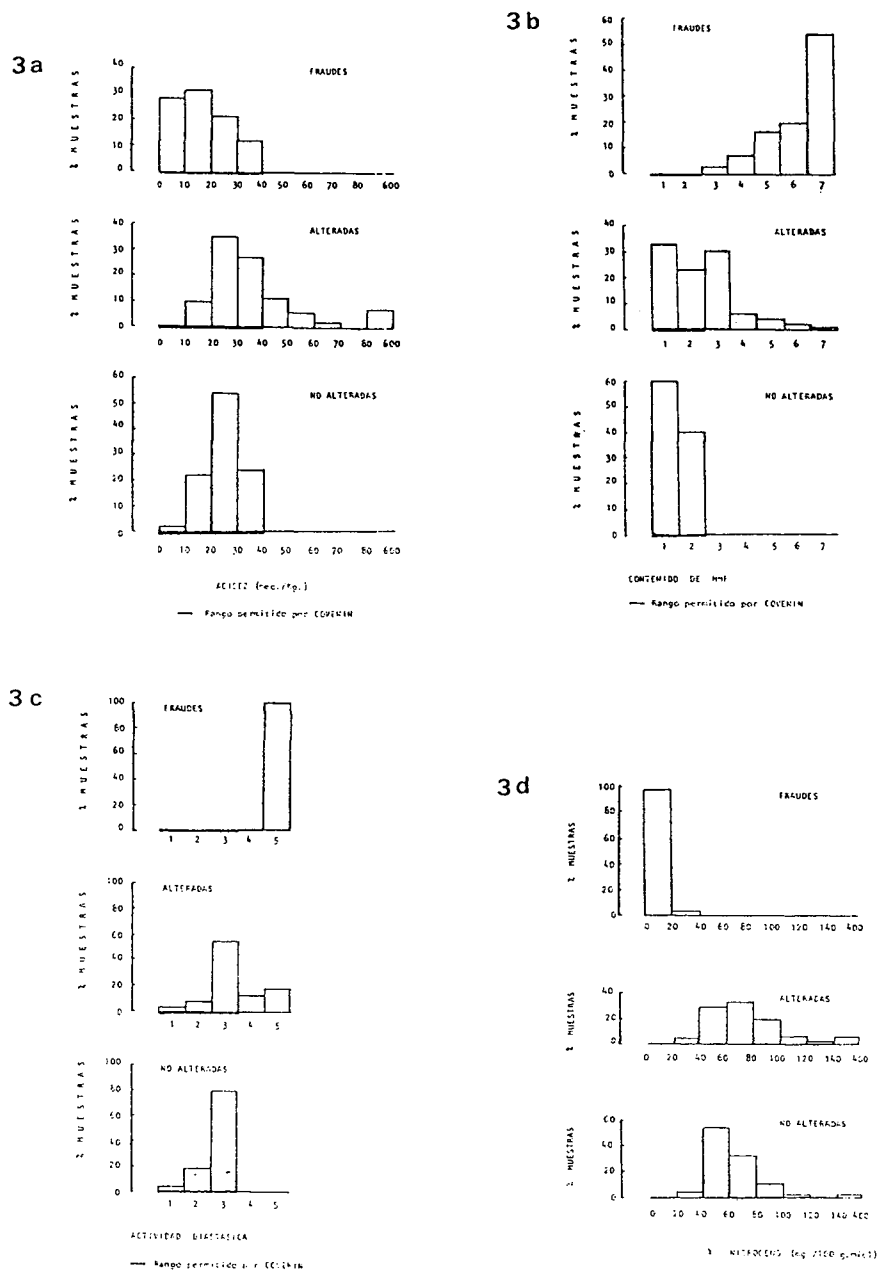
FIGURA 2
Distribución de los tres tipos de miel en clases progresivas según su contenido de humedad (a), de cenizas (b), de azúcares reductores (c) y de sacarosa (d)..



En la Fig. 3a. se presentan los tres tipos de miel distribuidos en nueve clases según su acidez. Puede observarse que los fraudes cumplieron satisfactoriamente con el requisito establecido en la norma (12). El rango más frecuente tanto en las mieles alteradas como en las no alteradas, se ubicó entre 20 y 30 meq/kg. En la clase más alta de las mieles alteradas, con valores excesivos para la acidez, puede

pensarse en alteraciones debidas a procesos fermentativos; sin embargo, en las clases inmediatamente superiores a 40 meq/kg podría existir una falta de tolerancia del requisito en mieles que sin estar alteradas poseen una acidez elevada. Este hecho ha sido señalado con anterioridad para mieles zulianas e italianas (24, 37).

FIGURA 3
Distribución de los tres tipos de miel en clases progresivas según su acidez (a), su contenido de hidroximetilfurfural ¹ (b), la actividad de la diastasa ² (c) y su contenido de nitrógeno (d).



1. Para el hidroximetilfurfural se utilizó la escala hedónica elaborada por Vit (18).
2. Para la diastasa se utilizó la escala hedónica elaborada por Vit (18).

En la Fig. 3b se muestran los tres tipos de miel distribuidos en siete clases según su contenido de HMF, donde se observa que los fraudes no cumplen con el requisito establecido en las normas nacionales (12) y se ubicaron mayormente en la clase más alta. A su vez, el mayor porcentaje de mieles alteradas que no cumple con este requisito, se ubicó en la clase inmediatamente superior a la del requisito permitido, y disminuyó progresivamente en los niveles mayores; además, un alto porcentaje de mieles alteradas satisfizo este requisito. Las mieles no alteradas se ubicaron en la primera clase, que corresponde al contenido más bajo de HMF en la escala utilizada, lo cual denota su buena calidad. El contenido de HMF constituye una determinación de rigor para conocer si las mieles han sido calentadas o si se trata de mieles viejas (24, 26, 37, 45), pero también es una prueba muy útil en la detección presuntiva de fraudes (46,47), donde inclusive las determinaciones cualitativas se han revelado de gran utilidad; sin embargo, es necesario recordar que pruebas positivas pueden corresponder tanto a fraudes como a mieles genuinas alteradas, como se acaba de comentar, por ello el resultado de este análisis deberá interpretarse en base a otros parámetros analizados, a fin de no emitir un juicio equivocado.

En la Fig. 3c aparecen los tres tipos de miel distribuidos en cinco clases según la actividad diastásica. Puede apreciarse que ningún fraude presentó actividad diastásica, y que algunas mieles genuinas también fallaron en cumplir este requisito. Tanto las mieles alteradas como las no alteradas se ubicaron preferentemente en el tercera clase, la cual corresponde a una actividad moderada. La actividad de la diastasa suele interpretarse junto con el contenido de HMF ya que ella también es afectada por el calentamiento y por el envejecimiento de las mieles, aún de manera inversa; además, su ausencia siempre es una constante en los fraudes porque en ellos no existe ese residuo enzimático. Nuevamente se trata de un parámetro muy variable y dependiente del origen botánico por lo que sus requisitos cuantitativos necesitarían adecuaciones específicas (37,44). Tanto para el contenido de HMF como para la actividad de la diastasa, resultaría conveniente que la norma (12) sustituyera los actuales requisitos cualitativos por valores numéricos, a fin de reportar resultados más precisos y más comparables con las normas de otros países.

En la Fig. 3d. se distribuyeron los tres tipos de mieles analizadas según su contenido de nitrógeno. Puede observarse que a diferencia de las mieles genuinas, los fraudes se ubicaron casi totalmente en la clase con más bajo contenido de nitrógeno, comprendida entre 0 y 20 mgN/100 g miel, en el cual no se ubicó ninguna muestra de miel genuina. La mayoría de las mieles genuinas, alteradas o no, se ubicaron en el rango comprendido entre 40 y 80 mgN/100 g miel, pero ocuparon también rangos

superiores. La determinación de compuestos nitrogenados en la miel ha interesado a diversos autores (48,49) y existe información sobre su utilidad en la detección de fraudes (50,46,51,52); por ello se incluyó la determinación del contenido de nitrógeno en el presente trabajo, aunque no figura en las normas nacionales (11,12), los resultados obtenidos son alentadores y por ello se sugiere su consideración en la futura revisión de las mencionadas normas nacionales para miel de abejas. Resultaría interesante poder utilizar indicadores nitrogenados más específicos, tal como el contenido de prolina en mieles, que es el aminoácido más abundante en la miel de abeja (50,53).

AGRADECIMIENTO

El constante apoyo al investigador y el financiamiento otorgado por el Consejo de Desarrollo Científico, Humanístico y Tecnológico de la Universidad de Los Andes (Proyecto FA-76-86) fueron altamente estimulantes para la realización de este trabajo, junto con la colaboración de los apicultores venezolanos que proporcionaran muestras de miel y del Ministerio de Sanidad y Asistencia Social que suministró la lista de registros sanitarios de miel de abejas en Venezuela. Asimismo, apreciamos altamente la participación de la Farm. Trina Vargas (Universidad Central de Venezuela en Maracay, la Farm Esther Olivo de Acosta (Instituto Nacional de Higiene «Rafael Rangel» en Caracas), el Dr. Stefan Bogdanov (Instituto de Investigaciones Lácteas Sección Apícola en Suiza), el Dr. Günter Vorwohol (Universidad de Hohenheim en Alemania), el Dr. Michel Gonnet (Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas en Francia) y la Dra. María Lucía Piana (Apicultura Piana en Italia), por la orientación ofrecida para realizar algunos análisis y para interpretar sus resultados. También se agradece a Leonardo Vit, Yasmil Gutiérrez, Azueg Hong y Daniel Vit por su trabajo en el laboratorio y con la computadora.

REFERENCIAS

1. Comisión del Codex Alimentarius. Norma Regional Europea para Miel. CAC/RS-12. Roma, Programa Conjunto FAO/OMS. 1969.
2. Maurizio A. How bees makes honey. En: Honey, a comprehensive survey. E. Crane (Ed.) London, Heinemann, - 240-257, 1976.
3. Piana G., G. Ricciardelli & a. Isola. II Miele. Milano Edagricole. 1981.
4. Ricciardelli G. & L. Persano. Flora Apistica Italiana. Roma. Federazione Apicoltori Italiana. 1981.
5. Bailo E. Nuova Apicoltura Pratica Mediterranea. Milano, Ottaviano. 1983.
6. Sintés J. Virtudes curativas de la miel. Barcelona, Ed. Sintés S.A. 1977.
7. Bhat K. Qué, cómo y cuándo comer. Cumaná, Industria Gráfica Oriental. 1983.
8. López-Palacios S. Usos médicos de plantas comunes. Mérida, Talleres Gráficos Universitarios., 1984.

9. Bhat K. *Herbolario Tropical, una manera sencilla de vivir mejor*. Caracas, Editorial Texto, 1985.
10. Ioirish N. *Las abejas, farmacéuticas aladas*. Moscú, Editorial Mir. 1985.
11. Comisión Venezolana de Normas Industriales. *Miel de abejas. Métodos de Ensayo*. COVENIN 2136-84. CT10 S/14, Caracas.
12. Comisión Venezolana de Normas Industriales. *Miel de Abejas Covenin 2191-84*. CT10 S/14, Caracas, 1984.
13. Gonnet M. & G. Vache. *Técnica de degustación de las mieles y elaboración de un sistema de notación y clasificación objetiva para su calidad mediante análisis sensorial*. *Apiacta XII*:105, 1979.
14. Maurizio A. Comunicación personal. 1985.
15. Ricciardelli G. Comunicación personal. 1985.
16. Vorwohol G. Comunicación personal. 1985.
17. Louveaux J. Comunicación personal. 1985.
18. Vit P. *Clasificación de mieles comerciales venezolanas según sus características físico-químicas y organolépticas. Trabajo de ascenso a la categoría de Profesor Agregado*. Universidad de Los Andes, Mérida, 1988.
19. Rodríguez B&E. Martín. *Análisis de alimentos. Apuntes mimeografiados*. Universidad Central de Venezuela. Caracas, 1980.
20. Association of Official and Analytical Chemists. *Official Methods of Analysis of the AOAC*. 14th ed. Arlington, The Association, 1984.
21. Sokal R.R. & F.J. Rohlf. *Biometría*. Madrid Ed. H. Blume. 1979.
22. Duncan D.B. *Multiple range and multiple F-test*. *Biometrics*, 11:11, 1955.
23. Vit P. *Miel de abejas*. Cuadernos de Ciencia de los Alimentos N°1. Mérida, Consejo de Publicaciones ULA. 1993.
24. Palencia Y. *Caracterización de las mieles de abejas producidas en los distritos Mara, Maracaibo y Perijá del Estado Zulia. Trabajo de ascenso a la categoría de Profesor Asociado*. Universidad del Zulia, Maracaibo, 1987.
25. White J.W. *Composition of honey*. En: *Honey a comprehensive survey*. E. Crane (Ed.). London, Heinemann, 1976 p. 157-206.
26. Butta A., G. Caserio, M. Bizzozero & M. Colombo. *Indagine sulle qualità merceologica e sulle caratteristiche microbiologiche di mieli in commercio*. *Industrie Alimentari*, 22:838, 1983.
27. Gonnet M. *Standardizzazione delle metodologie di analisi sensoriale del miele e valutazione degli attuali approcci analitici concernenti al miele*. Mesa redonda 7a. Edición Concurso de Miles «Giulio Piana». Castel San Pietro, Italia, 1987.
28. Gonnet M & G. Vache. *L'Analisis sensoriale dei mieli*. Roma, Federazione Apicoltori Italiani, 1984.
29. White J.W. *Physical characteristics of honey*. En: *Honey a comprehensive survey*. E. Crane (Ed.) London, Heinemann, 0 207-239. 1976.
30. Contessi A. *Le api*. Bologna, Edagricole, 1983.
31. Amato P & A. Azzi. *Sulla caratteristica del sapore dolce degli edulcoranti*. *Industrie Alimentari*, 22:267, 1983.
32. Grout R. *L'Ape e l'Arnia*. Bologna, Edagricole, 1981.
33. Gonnet M. Comunicación personal, 1986.
34. Piana L. Comunicación personal, 1986.
35. Louveaux J., M.P. Pourtallier & G. Vorwohol. *Méthodes d'analyses de miels. Conductivité*. *Bull Aplic XVI*:7. 1973.
36. Accorti M., M.G. Piazza & L. Persano. *Conducibilità elettrica e ceneri nei mieli*. XXIX Congreso Internacional de Apicultura, Budapest, Apimondia, 1983.
37. Persano L., M. Accorti & G. Piazza. *Recepimento in Italia della Direttiva CEE sul miele: Rispondenza del prodotto nazionale ai parametri previsti*. *Apicoltura* 1:141, 1985.
38. Steinkrauss K.H., R.A. Morse, H. Vaminh, B.V. Mendoza & F.M. Laigo. *Chemical analysis of honey: A brief summary 1900-191*. *Bee World* 52:122, 1971.
39. White J.W. *Honey composition and properties. Beekeeping in the United States*. *Agricultural Handbook*. 335:56, 1980.
40. White J.W. & L.W. Doner. *Sugar and sugar products. Mass spectrometric detection of high-fructose corn syrup in honey by use of ¹³C/¹² ratio: Collaborative study*. *J. Assoc. Off. Anal. Chem* 61:746. 1978.
41. Kushnir I. *Sensitive thin layer chromatographic detection of high fructose corn syrup and other adulterants in honey*, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 62:917, 1979.
42. White J.W., I. Kushnir & L.W. Doner. *Charcoal column/thin layer chromatographic method for high-fructose corn syrup and spectrophotometric detection for hydroxymethylfurfural in honey: Collaborative studies*. *J. Assoc. Off. Anal. Chem* 62:921, 1979.
43. Doner L.W., J.W. White & J.G. Phillips. *Gas liquid chromatographic test for honey adulteration by high fructose corn syrup*. *J. Assoc. Anal. Chem.* 62:186, 1979.
44. Bogdanov S. *Standardizzazione delle metodologie di analisi sensoriale del miele e valutazione degli attuali approcci analitici concernenti al miele*. Mesa redonda 7a. Edición Concurso de miles «Giulio Piana». Castel San Pietro. Italia, 1987.
45. Bianchi M.E. *Control de calidad de la miel*. Santiago del Estero, Talleres Gráficos de Impresiones Arte. 1986.
46. Vargas T. *Estudio físico-químico de miel en el Estado Aragua, su aplicación en el control de fraudes. Trabajo de ascenso a la categoría de Profesor Asociado*. Universidad Central de Venezuela. Maracay. 1983.
47. Casanova R. *Estudio de la calidad de la miel de abejas comercializada en la ciudad de San Cristóbal, Estado Táchira*. *Revista Científica UNET* 1:82, 1987.
48. Bianchi M.E. *Determinación fotocolorimétrica de proteínas totales de la miel*. Centro de Investigaciones Apícolas. Material mimeografiado. Universidad Nacional Santiago del Estero. Santiago del Estero, 1977.
49. Bosi G. & M. Battaglini. *Gas chromatographic analysis of free and protein aminoacids in some unifloral honeys*. *J. Apic. Res.* 17:152, 1978.
50. White J.W. & O.N. Rudyj. *Proline content of United States honeys*. *J. Apic. Res.* 17:234, 1978.
51. Almeida R.P. & L.C. Marchini. *Determinação proteica de diferentes tipos de méis*. VII Congreso Brasileiro de Apicultura, Salvador, Brasil, 1986.
52. Vit P. *Utilidad de la determinación del contenido de nitrógeno en el control de calidad de mieles venezolanas*. *Acta Científica Venezolana* 38:511. 1987.
53. Davies A.M.C. *Proline in honey: As osmorregulatory hypothesis*. *J. Apic. Res.* 17:227. 1978.

Recibido: 01-04-1993

Aceptado: 15-11-1993

Caracterización química y nutricional del amaranto (*Amaranthus cruentus*)

Enrique Yáñez¹, Isabel Zacarías¹, Denise Granger², Magaly Vásquez³ y Ana María Estévez³

Resumen. Se estudiaron dos muestras de *Amaranthus cruentus* cosechadas en 1987 (A) y 1990 (B) en los alrededores de la ciudad de Santiago. Con ellas se prepararon harinas integrales y refinadas. Las harinas integrales contenían 14.6 y 12.6% de proteína respectivamente y 6.6 y 7.3 de aceite en las muestras A y B respectivamente. Ambas muestran contienen cantidades interesantes de Ca, P, Mg y K. La composición del aceite de amaranto de la harinas integrales mostró, en promedio, 19% de ácido palmítico, 3.4% de ácido esteárico, 34% de ácido oleico y 33% de ácido linoleico. Además aparece el ácido docosaenoico (C22:1) con 9%. En términos generales la razón de ácidos grasos saturados a insaturados fue 1:3 aproximadamente. La concentración de fibra cruda fue 3.7% en las harinas integrales y 2.4% en las refinadas. La calidad biológica de la proteína de las harinas integrales y refinadas crudas se midió en la rata mediante el método de la razón proteica neta (NPR). Los valores de los cuatro materiales ensayados variaron entre 3.04 y 3.20 (caseína 4.08) no registrándose diferencias significativas entre ellos. Estos valores corresponden a 75 y 78% del valor de la proteína patrón. La evaluación biológica de la proteína de combinaciones de harina de trigo comercial y de amaranto integral crudas reveló un buen efecto complementario entre ambos materiales, medido como razón de eficiencia proteica (PER). El PER de la harina de trigo fue 0.54, valor que mejoró con cada incremento de la incorporación de amaranto hasta alcanzar a 2.15 en la mezcla 25:75 (trigo/amaranto). La proteína de amaranto sola dio un PER de 1.94 (caseína 2.77). El proceso de extrusión aplicado a mezclas de trigo/amaranto arrojó un valor de PER de 1.64 para trigo, en comparación con la misma dieta sin extruir que en el experimento anterior dio un valor de 0.54. La dieta 90/10 (trigo/amaranto) produjo un ligero incremento no significativo en la calidad de la proteína. Los niveles de sustitución de 30 y 50% produjeron efectos estadísticamente significativos ($p < 0.05$) en la calidad proteica alcanzando valores de PER de 2.04 y 2.24. Las mezclas de maíz/amaranto registraron aumentos no significativos ($p > 0.05$) en la ingesta, crecimiento y en la razón de eficiencia proteica. La dieta 50:50 (maíz/amaranto) produjo una mejoría estadísticamente significativa ($p < 0.05$) en el PER en comparación con la dieta de maíz alcanzando un valor de 2.47. Los resultados de este estudio indican que el amaranto es un valioso recurso vegetal que contiene más proteína y de mejor calidad que la de los cereales y puede jugar un rol importante en las dietas humanas junto a los cereales cuyo valor proteico contribuye a mejorar.

SUMMARY. Chemical and nutritional characterization of amaranthus (*Amaranthus cruentus*). Two samples of *Amaranthus cruentus* harvested in 1987 (sample A) and 1990 (sample B) were studied. Whole and refined flours were obtained. The whole flours contained 14.6 and 12.6% protein and 6.6 and 7.3 ether extraction, respectively. Both samples contained significant levels of Ca, P, Mg and K. Amaranth oil contained 19% palmitic acid, 3.4% stearic acid, 3.4% stearic acid, 34% oleic acid and 33% linoleic acid. Docosaenoic acid (C22:1) was present at the level of 9%. The ratio of saturated to unsaturated fatty acids was approximately 1:3. The level of crude fiber was 3.7% in the whole flours and 2.4% in the refined ones. Biological protein quality of flours was measured in the rat by the net protein ratio (NPR) method. The NPR values of the four materials tested ranged from 3.04 to 3.20 (NS), as compared with 4.08 for casein. These values are equivalent to 75-78% of the standard protein. Blends of raw wheat flour and whole amaranth flour fed to rats produced a good complementary effect between proteins, as shown by PER test. Wheat flour gave a poor PER value of 0.54. However, this figure increased with every increment of amaranth flour reaching a value of 2.15 for the blend 25:75. The PER for the amaranth diet (0:100) was 1.94 (casein 2.77). As expected, the extrusion process applied to the wheat/amaranth and corn/amaranth mixtures improved the biological quality of the protein. The wheat flour diet (100:0) gave a PER value of 1.64. Mixture 90:10 produced a low non significant increase in the protein quality. Higher levels of substitution, 30 and 50%, significantly improved the protein quality reaching PER values of 2.04 and 2.24 respectively. Corn/amaranth blends produced significant increases only at the levels of 70:30 and 50:50. The results of this study show that amaranth seeds are a valuable resource, containing a higher level of protein of better quality than cereals like wheat and corn and may play an important role in human diets.

1 Universidad de Chile, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA), Casilla 138-11, Santiago, Chile.

2 Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA), Estación Experimental La Platina, Santiago, Chile.

3 Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Santiago Chile.

Esta investigación fue financiada parcialmente por el Proyecto 989/90 de FONDECYT (Chile)

INTRODUCCION

El amaranto era cultivado en América desde antes de la llegada de los españoles, alcanzando su apogeo en los períodos Maya y Azteca (1). La semilla era consumida en distintas preparaciones, pero también se aprovechaban las hojas y tallos. La semilla del amaranto, molida y amasada con sangre proveniente de sacrificios humanos era ofrecida a las divinidades y consumida por los habitantes en sus ceremonias religiosas. Cuando Cortés conquistó esos territorios en 1519, prohibió dichas prácticas y el amaranto casi desapareció. Su cultivo logró mantenerse precariamente en remotos lugares montañosos. Sólo en épocas recientes el amaranto salió de su letargo y actualmente se le cultiva, aparte México y Centroamérica, en los territorios andinos de América del Sur. En la actualidad existe un gran interés por desarrollar comercialmente el cultivo del amaranto en varios países como EE.UU. y también en Europa y Latinoamérica (2-6).

Las especies con mejores posibilidades de desarrollo son *Amaranthus cruentus*, *A. caudatus* y *A. hypochondriacus*. Según Sánchez-Marroquín su cultivo se ha desarrollado principalmente en México, Suroeste de EE.UU., Sur de Canadá, Guatemala, Perú, Bolivia y Argentina (2). Sin embargo, otros autores señalan que el amaranto es un componente de las dietas humanas en Australia, África y Asia, especialmente en Nepal y en regiones montañosas del Norte y Sur de la India en las formas de grano y hortaliza. (1). Entre las ventajas del amaranto se ha señalado que crece bien en suelos áridos y pobres que no son aptos para los cereales (1) como son los de los altos valles de América del Sur. Las semillas pueden someterse a diversos tratamientos como reventado, tostado o molienda para consumir en suspensiones con agua o con leche o en forma de pan, tortilla, galletas y otras preparaciones. (2).

La composición química proximal del amaranto de grano indica que el contenido de proteína puede alcanzar a 16-17% que es bastante superior al del trigo o maíz (1). La composición de aminoácidos señala un alto contenido de lisina, si se le compara con la proteína del trigo o del maíz. Su aminoácido limitante es la leucina, lo que no representa un inconveniente porque dicho aminoácido se halla en exceso en la mayoría de los cereales. La proteína presenta un buen valor nutritivo, ya sea que se le compare con cereales o con la caseína. Los valores de PER que han sido comunicados varían entre 1.5 y 2.0 (corregidos en relación a un valor de 2.50 de caseína) y su disponibilidad es cercana a 90%. El contenido de aceite varía entre 6-8% aproximadamente. Su composición indica que los ácidos oleico y linoleico constituyen alrededor del 70% y el ácido esteárico representa el 20%.

A diferencia de la quinua, no contiene saponinas, compuestos que le imparten un sabor amargo. Otros principios antinutricionales como el factor antitriptico y hemaglutininas parecen encontrarse en bajas concentraciones. Lo mismo sucedería con nitratos y oxalatos. En cambio, el factor limitante parece ser la carencia o bajo contenido de gluten.

El cultivo del amaranto es prácticamente inexistente en Chile, habiéndose realizado sólo algunas experiencias preliminares que han tenido como fin conocer las características culturales, la composición química y su valor nutritivo. Por ello, el objetivo de esta investigación fue contribuir a conocer sus características químicas y nutritivas y posibles aplicaciones en la alimentación humana.

MATERIALES Y METODOS

Se evaluaron dos muestras de *Amaranthus cruentus* de las cosechas 1987 (muestra A) y 1990 (muestra B), respectivamente, de cultivos realizados en la localidad de Colina, cercana a Santiago. Ambas fueron sometidas a molienda para producir harinas integrales y refinadas. La molienda para obtener harina integral se efectuó en un molino Brabender Quadrumat Junior tipo II, modelo N° 279002, de cuatro rodillos. La operación se realizó sin malla tamizadora para obtener harina integral. Para la obtención de harina refinada se utilizó un molino Buhler modelo MLU-202. Esta molienda consiste en la trituración del grano por medio de rodillos. Debido al pequeño tamaño de la semilla de amaranto (diámetro aproximado de 1mm), fue necesario modificar el proceso eliminando los dos primeros pasajes del molino.

Ambos tipos de harina se sometieron a análisis químico proximal que incluyó las siguientes determinaciones: humedad, cenizas, extracto etéreo, nitrógeno y fibra cruda, empleando los métodos de la AOAC (7). El valor potencial de nitrógeno se multiplicó por 5.85 para obtener el porcentaje de proteína (1). El extracto no nitrogenado (ENN) se calculó por diferencia entre 100 y la sumatoria de los contenidos de humedad, cenizas, lípidos, proteína y fibra cruda.

Composición de ácidos grasos

La composición de ácidos grasos se determinó sólo en la muestra A. El análisis comprendió las etapas de saponificación con NaOH 0,5N en metanol; metilación con BF₃, al 14% en metanol; extracción con n-heptano; y cromatografía de gas en un equipo Carlo Erba 6000 Vega Series 2 (8).

Macro y microminerales

Para determinar los elementos Ca, Mg, Zn, Fe, Na y K, la muestra se sometió a una hidrólisis ácida. Para medir Cu y Mn la muestra se redujo a cenizas a 550°C por 18 horas. La medición de Ca, Mg, Fe, Zn, Cu y Mn, se realizó en un espectrofotómetro de absorción atómica Perkin-Elmer modelo 1100B. El Na y el K se midieron por emisión atómica en el mismo instrumento. El fósforo se determinó por reducción a cenizas y reacción colorimétrica con molibdato de sodio y sulfato de hidrazina a 700 nm, en un espectrofotómetro UV-visible Perkin Elmer 1A. (9).

Calidad biológica de la proteína

La calidad biológica de la proteína de las harinas integrales

y refinadas se midió en ratas en crecimiento de la raza Wistar de la colonia del INTA. Para ello se empleó el método de la razón proteica neta (NPR), de acuerdo a la metodología de Bender y Doell (10).

Los materiales en ensayo se incorporaron en las dietas en cantidad suficiente para proveer un nivel proteico de 10%. Se incluyó además una dieta aprotéica, como lo requiere el método mencionado (10), y un tratamiento con una proteína de referencia constituida por caseína ANRC. En cada tratamiento se usaron diez ratas de 21-23 días de edad, de ambos sexos. Los animales se alojaron en jaulas individuales de malla de alambre con fondo cribado.

La experiencia duró 14 días durante los cuales las ratas recibieron la dieta y el agua de bebida ad libitum.

Mezclas de amaranto y trigo

Para conocer el efecto complementario de las proteínas de trigo (T) y amaranto (A) se prepararon mezclas de harina de trigo refinada y harina integral de amaranto, ambas crudas, en las siguiente proporciones: (%): 100:0, 75:25; 50:50, 25:75 y 0:100. La calidad biológica de la proteína de estas combinaciones se evaluó en la rata por el método de la razón de eficiencia proteica (PER) en un experimento de 4 semanas según Chapman et al. (11) Cada siete días, se renovó la dieta y se pesaron los animales en forma individual.

Cocción-extrusión de mezclas de amaranto y cereal

En una segunda etapa se prepararon mezclas de harinas de amaranto/trigo y amaranto/maíz en las razones de 100:0,

90:10, 70:30 y 50:50. Se las sometió a un proceso de cocción-extrusión en un equipo Wenger X-25. El extrusor acondicionado para el proceso se alimentó con la mezcla respectiva a la velocidad de 2300 g/min. La temperatura máxima empleada fue 145°C durante los últimos 10 seg. En este proceso la matriz Wenger utilizada constó de dos orificios de 1/4 pulg. La apariencia del producto extruido fue de trozos livianos, de tamaño irregular de 1-2 cm de color café amarillento.

Se determinó la composición química proximal de estas combinaciones y luego se midió la calidad biológica de la proteína por el método de la razón de eficiencia proteica (PER) en ratas, ya mencionado. Las dietas no fueron isoproteicas.

RESULTADOS

La composición proximal de los materiales ensayados se presenta en la Tabla 1. El grado de humedad, alrededor de 9-10% es compatible con la buena conservación del grano y de sus productos. Los valores encontrados en la muestra A y B y sus fracciones concuerdan bastante bien con las señaladas por diferentes investigadores (1,26). Es interesante destacar el contenido de lípidos, que es superior al del maíz, por el valor calórico que imparten a la semilla. Nuestros resultados confirman también el buen nivel de proteína que presentan tanto las harinas integrales (14.6 y 12.6%), como las refinadas (16.33 y 15.5%) y los afrechillos (14.0 y 11.7%). Estas cifras son superiores en alrededor de 50% a las que se encuentran en el trigo.

TABLA 1
COMPOSICION QUIMICA DE HARINAS DE *AMARANTHUS CRUENTUS*
(g/100g)

	Muestra A			Muestra B		
	Harina integral	Harina refinada	Afrechillo	Harina integral	Harina refinada	Afrechillo
Humedad	9.6	9.8	10.5	10.2	9.6	10.0
Cenizas	2.6	3.3	2.8	2.5	3.2	2.1
Ext. etéreo	6.6	8.8	—	7.3	10.2	—
Proteína*	14.6	16.3	14.0	12.6	15.5	11.7
Fibra cruda	3.7	2.4	4.1	3.7	2.3	5.2
E.N.N.	62.9	59.4	—	67.5	61.5	—
Kcal/100g	369	382	—	386	400	—

*N x 5.85

El contenido de elementos minerales aparece en la Tabla 2. El calcio presente en la muestra B es igual al comunicado por Saunders y Becker (1) para la misma especie *A. cruentus*. Los valores de la muestra A resultaron inferiores a los de la muestra B. La harina refinada de amaranto B contiene 176 ppm de hierro, cifra que es unas ocho veces superior a la de la harina de trigo para panificación (12). Se ha señalado que *A. cruentus* contiene 310 ppm de sodio, lo que contrasta fuertemente con nuestros propios análisis en que dicho elemento no pudo ser detectado. Nuestros valores son más concordantes con los de McCance y Widdowson quienes dan un valor de 30 ppm de dicho elemento en la harina de trigo blanca (12). Nuestros valores de potasio en amaranto son unas cuatro veces más altos que los valores de este elemento en la harina de trigo (12). Los valores de zinc, cobre y manganeso son también más altos que los que se encuentran en la harina de trigo (12).

TABLA 2
CONTENIDO DE AGUNOS MACRO Y
MICROMINERALES EN HARINAS DE *AMARANTHUS*
CRUENTUS (mg/kg)

	Muestra A		Muestra B	
	Integral	Refinada	Integral	Refinada
Calcio	1084	1171	1741	1583
Fósforo	5410	4872	4185	4286
Magnesio	2990	3355	2697	2734
Hierro	111	128	136	176
Potasio	5245	5769	4193	4200
Zinc	21	27	38	35
Cobre	5	6	7	7
Manganeso	21	23	20	23

En cuanto a la composición de ácidos grasos del aceite de *A. cruentus* el análisis reveló contenidos de 19.7% y 18.5% de ácido palmítico y 3.4 y 3.3% de ácido esteárico (Tabla 3). El ácido oleico (C 18:1) constituye el 33.0% y 34.2% en las muestras A y B, respectivamente. El ácido linoleico (C 18:2) forma el 34.3% y 32.5% de los lípidos, respectivamente, mientras que el análisis indicó cantidades no significativas de ácido linolénico. A estos se agrega el ácido docosaenoico (C 22:1) en 8 y 10% respectivamente. La razón de ácidos grasos saturados a insaturados es aproximadamente 1:3.

TABLA 3
COMPOSICION DE ACIDOS GRASOS DEL ACEITE
DE *AMARANTHUS CRUENTUS*

Acidos grasos		Muestra	
		A Esteres metflicos	B (%)
Mirístico	C 14:0	tr	0.1
Palmítico	C 16:0	19.7	18.5
Palmitoleico	C 16:1	tr	0.1
Esteárico	C 18:0	3.4	3.3
Oleico	C 18:1	33.0	34.2
Linoleico	C 18:2	34.3	32.5
Linolénico	C 18:3	tr	0.4
Eicosanoico	C 20:0	tr	0.4
Docosaenoico	C 22:1	8.0	10.0
Total saturados		23.1	21.9
Total insaturados		75.3	77.1

En la Tabla 4 se presentan los resultados de la evaluación biológica de la proteína de las muestras A y B. El crecimiento de las ratas en este estudio fue 9.5 g y 10.5g en las muestras de harinas integrales A y B; las harinas refinadas produjeron aumentos de peso inferiores, de 8.3 y 7.0g, respectivamente. La ingesta fue prácticamente idéntica en ambos tipos de materiales: 81.3g y 81.0g en las muestras integrales y 74.5g y 76.3g en las muestras refinadas; sin embargo, las diferencias observadas no resultaron estadísticamente significativas. Por otra parte, la ganancia de peso y la ingesta dietaria resultaron, en todos los casos, inferiores a los de los animales que recibieron la dieta control de caseína ($p < 0.05$). En la misma Tabla 4 aparecen los valores de razón proteica neta (NPR). Las harinas integrales produjeron valores de 3.04 y 3.08, los que aumentaron a 3.17 y 3.20 en las harinas refinadas. Estas diferencias no son significativas. Los cuatro productos ensayados resultaron significativamente inferiores al valor 4.08 obtenido para caseína. Es interesante comparar estos resultados con los comunicados por Bressani (6) quien en un total de 10 muestras, provenientes de Perú, México y Guatemala encontró valores de NPR promedio de 2.30, 2.04 y 2.36 respectivamente. En otro estudio de 31 muestras, los valores de NPR fluctuaron entre 1.74 y 3.14 (6).

TABLA 4
RESULTADOS DEL ESTUDIO BIOLÓGICO DE
HARINAS DE DOS MUESTRAS DE *AMARANTHUS*
CRUENTUS

Dietas	Variación de peso (g)	Ingesta (g)	NPR
Harinas:			
Integral A	9.5±3.7	81.3±8.1	3.04±0.50 ^b
Refinada A	8.3±4.0	74.5±10.0	3.17±0.30 ^b
Integral B	10.5±2.8	81.0±8.9	3.08±0.22 ^b
Refinada B	7.0±3.0	76.3±6.7	3.20±0.38 ^b
Caseína	29.8±6.7	111.3±10.2	4.08±0.36 ^a

Variación de peso grupo apteico: -14.7 g

Los resultados de la evaluación biológica de la proteína, medida como razón de eficiencia proteica (PER), de combinaciones de trigo: amaranto (T:A) aparecen en la Tabla 5. Puede apreciarse que las ratas que recibieron la dieta de harina de trigo (100:0) tuvieron una baja ingesta, un pobre crecimiento y un bajo valor de PER, 0.54. Sin embargo, las combinaciones 75:24, 50:50 y 25:75 produjeron incrementos graduales en la ingesta y en el peso de las ratas que se tradujeron en aumentos importantes en la razón de eficiencia proteica de aproximadamente, dos, tres y cuatro veces el valor de la proteína de trigo. La combinación que produjo los mejores resultados fue la 25:75 con un PER 2.15. Es interesante señalar que la dieta de amaranto produjo un PER de 1.94 que es significativamente superior ($p < 0.001$) a la de trigo. La dieta de caseína produjo un PER de 2.77. Los resultados de este experimento confirman el carácter complementario de la proteína de ambos granos y señalan la ventaja nutricional que se produciría al usarlos en la formulación y producción de nuevos alimentos.

TABLA 5
VALORACION BIOLÓGICA (PER) DE PROTEINAS
DE TRIGO Y AMARANTO Y MEZCLAS DE ELLAS
vs. CASEINA

Mezclas	Peso Inicial	Variación de peso	Ingesta total	PER
T : A				
100: 0	50.6±3.2	7.0±2.1	180.4±17.4	0.54±0.15 ^a
75 : 25	50.5±3.3	22.4±7.3	198.5±25.6	1.31±0.35 ^b
50 : 50	50.6±3.3	29.1±12.2	205.1±34.3	1.50±0.46 ^b
25 : 75	50.8±3.0	48.9±10.7	232.6±36.2	2.15±0.24 ^c
0 : 100	50.9±2.7	46.4±8.7	233.0±20.7	1.94±0.23 ^c
Caseína	50.9±3.3	74.1±13.5	263.4±29.8	2.77±0.24 ^d

Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0.05$)

El efecto de la cocción-extrusión sobre combinaciones de trigo/amaranto y maíz/amaranto se presenta en la Tabla 6. La ingesta dietaria de las ratas que consumieron trigo: amaranto en las razones 100:0 y 90:10 registraron la misma ingesta total, aunque con distintas dispersiones. Los valores de ganancia de peso fueron 40.5 y 1.70 (ns). Puede concluirse que el proceso tecnológico empleado fue muy efectivo, porque en el experimento anterior la proteína de harina de trigo cruda (100:0) registró un PER de 0.54. Este efecto se debe fundamentalmente a una mejoría de la digestibilidad de la proteína y del almidón, así como a la destrucción de factores antinutricionales presentes en la semilla. Las mezclas 70:30 y 50:50 produjeron aumentos importantes en la ingesta: 283.1 y 286.3g y ganancia de peso, 60.5 y 68.9g, respectivamente, en relación a las combinaciones anteriores. Los valores de PER se incrementaron significativamente ($p < 0.05$) en relación a las combinaciones anteriores, pero no son estadísticamente diferentes ($p > 0.05$) entre ellos. Resulta interesante comparar el comportamiento de la mezcla trigo:amaranto (50:50) al estado crudo y sometida al proceso de cocción-extrusión. Las Tablas 5 y 6 muestran de manera muy clara el efecto favorable del procesamiento sobre los parámetros ingesta total, ganancia de peso y calidad biológica de la proteína (PER). La diferencia en la calidad proteica puede explicarse por la mejoría del patrón aminoacídico resultante de la complementación de aminoácidos de ambas proteínas. Las combinaciones de maíz: amaranto siguieron un patrón similar. Las ratas con la dieta 100:0 registraron una ingesta dietaria de 197.5g, la que aumentó gradualmente con el incremento de amaranto hasta alcanzar a 275.4g en la combinación 50:50. Un resultado similar se observó en la evolución del crecimiento de los animales. La dieta de maíz (100:0) produjo un valor de PER de 1.77, el que mejoró con cada incremento en la proporción de amaranto, llegando a 2.47 en la mezcla 50:50. Igual que en las combinaciones de trigo: amaranto, la buena calidad proteica observada en los distintos parámetros con las mezclas maíz: amaranto puede explicarse por el efecto del tratamiento aplicado y por la mejoría del patrón de aminoácidos esenciales. Estos resultados son similares a los obtenidos por Pedersen y cols. quienes alimentaron a ratas con dietas que contenían mezclas crudas y cocidas de amaranto con maíz, con trigo o con sorgo (13). Nuestros resultados mostraron una mejoría significativa en el crecimiento y en la razón de eficiencia proteica (PER), de modo similar al efecto que obtuvieron dichos investigadores al medir el valor biológico y la utilización proteica neta en sus materiales (13).

Los resultados obtenidos en este estudio confirman que la semilla de *A. cruentus* contienen más proteína y esta es de mejor calidad que la de los cereales, lo que la convierte en un valioso recurso para la alimentación humana. Además presenta alrededor de un 7% de aceite que le confiere un valor energético importante. Las combinaciones de trigo con amaranto al estado crudo y de trigo o maíz con amaranto sometido al proceso de extrusión indican que se produce una

buena complementación aminoacídica entre la proteína de amaranto y la de los cereales. Ello señala que existe la posibilidad de desarrollar una amplia gama de productos en base a las combinaciones señaladas para beneficio de la nutrición humana.

TABLA 6
CALIDAD BIOLÓGICA DE LA PROTEÍNA DE
MEZCLAS DE AMARANTO Y CEREALES
EXTRUIDOS

Mezclas T : A	Ingesta total (g)	Variación de peso (g)	Proteína ingerida (g)	PER
Trigo/amaranto				
100: 0	246.1±8.45	40.5±2.3	24.68±0.85	1.64±0.07 ^a
90 : 10	246.1±15.09	42.6±5.1	25.07±1.54	1.70±0.12 ^a
70 : 30	283.1±22.6	60.5± 8.1	29.64±2.34	2.04± 0.12 ^b
50 : 50	286.3±28.6	68.9±10.5	30.61±3.05	2.24±0.14 ^b
Maíz/amaranto				
100: 0	197.5±34.3	22.9±5.8	12.17±1.10	1.77±0.38 ^a
90 : 10	213.0±23.3	27.1±6.8	14.19±1.50	1.77±0.38 ^a
70 : 30	242.2±14.5	40.4±5.6	18.20±1.13	2.22±0.21 ^b
50 : 50	275.4±31.9	58.0± 7.8	23.44±2.71	2.47±0.14 ^b

Peso inicial ratas: 52.1±2.6g

Letras distintas indican diferencia significativa (p<.05)

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Srta. Verónica Cortés, la realización de algunos análisis de laboratorio y al Dr. Ernesto Guzmán Castro, su valiosa colaboración y sugerencias en la preparación de este manuscrito.

REFERENCIAS

1. Saunders RM & R. Becker. *Amaranthus*: a potential food and feed resource. In: advances in Cereal Science and Technology. Y Pomeranz (Ed), Vol. VI. Minnesota: AACCC 357-396. 1984.
2. Sánchez -Marroquín A. Dos cultivos olvidados de importancia agroindustrial: el amaranto y la quinua. Arch Latinoamer Nutr 33:11-322. 1983.
3. Yáñez GA, J.K. Messinger, C.E. Walter & R.H. Rupnow. Cereal Chem 63:273-276, 1986.
4. National Research Council. *Amaranth*: modern prospects for an ancient crop. National Academy Press, Washington, DC. 1985.
5. Vietmeyer ND. Lesser known plants of potential use in agriculture and forestry. Science 232:13379-1384. 1986.
6. Bressani R. Calidad proteínica de la semilla de amaranto cruda y procesada. El amaranto y su potencial. Vol N°3, 1983.
7. Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis of the AOAC. 13th edition, Washington, DC, The Association. 1980.
8. A.O.C.S. Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists Society R.C. Walter (ed), Champaign, IL. 1988.
9. Osborne D.R. and Voogt P. Análisis de los nutrientes de los alimentos. Sección 6. Cenizas, elementos y componentes inorgánicos. Editorial Acribia S.A. Zaragoza, España. p. 173-189. 1986.
11. Chapman D.G., Castillo Raúl and Campbell J.A. Evaluation of protein in foods 1. A method for the determination of protein efficiency ratios. Can J. Biochem Physiol 37: 679-686, 1959.
12. McCance R.A. and Widdowson, E.M. The composition of foods. Fifth edition. The Royal Society of Chemistry and Ministry of Agriculture, Fisheries and Food. United Kingdom, 1992.
13. Pedersen B., L. Hallgren, I Hansen & BO Eggum. The nutritive value of amaranth grain (*Amaranthus caudatus*). 2. As a supplement to cereals. Plant Foods for Human Nutrition 36: 325-334, 1987.

Recibido: 03-03-1993

Aceptado: 07-03-1994

Notas

CURSOS INTERNACIONALES OFRECIDOS POR EL INSTITUTO DE NUTRICION E HIGIENE DE LOS ALIMENTOS EN 1994

Infanta N° 1158. La Habana, 10300 Cuba

Tel: 53/7/70-8947, 53/7/71835, 53/7/32-9357, 53/7/32-3914

Fax: 53/7/333375 (OPS) 53/7/338212

• **Vigilancia Alimentaria y Nutricional.**

Fecha: 14 al 18 de Noviembre

Objetivo: Fortalecer la capacidad de profesionales para el desarrollo de la Vigilancia Alimentaria Nutricional (VAN).

Costo total: \$ 300,00

• **Computación aplicada a la evaluación de dietas para la Vigilancia Alimentaria y Nutricional.**

Fecha: Módulo I - Noviembre 21 al 25

Módulo II - Noviembre 28 a Diciembre 2

Módulo III - Diciembre 5 al 9

Objetivo: Capacitar a profesionales en el uso de las técnicas de computación para la evaluación de dietas como parte de la Vigilancia Alimentaria y Nutricional.

Costo total: \$ 1.050,00

Costo por módulos: \$ 350,00

• **Antropometría Nutricional**

Fecha: Módulo I - Octubre 10 al 19

Módulo II - Octubre 24 al 9 Noviembre

Objetivo: Estudiar aspectos teóricos y prácticos de la técnica antropométrica para la elaboración de indicadores del estado nutricional. Estudio de la composición corporal y el somatotipo en nutrición.

Costo total: \$ 1.055,00

Costo por módulos: Módulo I - \$ 445,00, Módulo II - \$ 610,00

• **Necesidades Fisiológicas y Calidad de las Proteínas**

Fecha: 5 al 9 de Diciembre

Objetivo: Actualizar los conocimientos sobre el establecimiento de los requerimientos de proteínas y aminoácidos esenciales y sobre los diferentes métodos para determinar la calidad de las proteínas de los alimentos.

Costo total: \$ 400,00

• **Manejo de Niños con Hiperfenilalaninemias**

Fecha: 13 al 17 de Septiembre

Objetivo: Conocer la metodología empleada en Cuba para el diagnóstico y tratamiento de la PKU.

Costo total: \$ 400,00

CONDECORACION

Archivos Latinoamericanos de Nutrición se complace en registrar en sus páginas el merecido reconocimiento de que fuera objeto el Dr. Guillermo Arroyave Borges con motivo de serle otorgada por el Gobierno de Guatemala la Orden "Rodolfo Robles" en su Segundo Grado.

El Artículo 1º del Acuerdo Gubernativo N° 130-94, fecha 29-03-1994, lee: "Artículo 1. Otorgar la Orden "Rodolfo Robles" en su Segundo Grado al Dr. Guillermo Arroyave Borges, por su dedicación a la investigación científica en la rama de Salud Pública, así como la constante abnegación y sacrificio en pro de la humanidad".

El Dr. Arroyave perteneció al cuerpo de profesionales del Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá, INCAP, entre 1949 y 1982.

ACLARATORIA

Los autores del trabajo: **Estudio sobre la composición química y contenido de factores antifisiológicos de la pasta residual de jojoba (*Simmondsia chinensis*)** son: F. Pérez-Gil, G.L. Sanginés, R.A. Torreblanca, L.G. Arellano Martínez, M.L. Grande y J.M.E. Carranco.

De esta manera damos cumplimiento a los deseos expresos de uno de los autores cuyo nombre fue involuntariamente omitido en ocasión de la publicación del citado trabajo en el N° 4, Volumen 39, 1989, de **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**.

Información para los autores

A. CONTRIBUCIONES A LA REVISTA

La Revista publica Editoriales, Artículos Generales, Trabajos de Investigación y de Nutrición Aplicada, y Cartas al Editor. Para su aceptación, las diversas contribuciones deben tratar temas de nutrición humana o animal, ciencia y tecnología de alimentos, factores socioeconómicos, de orden antropológico o cultural, relacionados con la nutrición humana.

1. Los *Artículos Generales* son revisiones críticas sobre algún tema de interés en el campo de la nutrición y ciencias afines, o discusiones generales que contengan criterios propios o recomendaciones de aplicación práctica, debidamente respaldadas por argumentos válidos.
2. Los *Trabajos de Investigación* se refieren a los resultados de estudios de experimentación llevados a cabo hasta el punto que permite la deducción de conclusiones válidas.
3. Los *Trabajos de Nutrición Aplicada* conciernen a la implementación de medidas basadas en la investigación, cuya finalidad es mejorar el estado nutricional de las poblaciones.
4. Las *Cartas al Editor* son notas cortas, de un máximo de 3 páginas, sobre temas de interés general u observaciones o críticas sobre alguna contribución publicada en la Revista.

B. NORMAS PARA LA ELABORACION DE MANUSCRITOS

1. Las contribuciones deben ser en papel tamaño carta, a máquina y a doble espacio. Se sugiere un máximo de 20 cuartillas.
2. Los trabajos por triplicado serán remitidos a los Editores de la revista, después de haber sido cuidadosamente revisados por el autor.
3. Los manuscritos pueden ser redactados en español, inglés, portugués y francés según la preferencia del autor.
4. No se aceptarán trabajos que, a juicio de los Editores, ocupen un espacio desproporcionado.

C. ORGANIZACION DEL MANUSCRITO

Se recomienda organizar cada manuscrito como sigue:

1. Título

La primera página del manuscrito debe contener el título completo del trabajo en mayúsculas, nombre completo y apellido del autor, institución de origen con letras iniciales mayúsculas y el resto en minúscula. (En la página siguiente debe indicarse el cargo que cada autor desempeña, identificándolos debidamente).

2. Resumen en el idioma original del artículo

Este debe ser informativo, presentado en hoja separada del texto, y preparado en forma clara y concisa para el lector que no ha leído el texto del artículo. Debe especificar también el propósito, método, resultados importantes y principales conclusiones.

3. Introducción

Debe indicar claramente el objetivo o hipótesis de la investigación y sus relaciones con la nutrición y otros trabajos existentes, evitándose largas revisiones bibliográficas.

4. Material y Métodos

La descripción de los materiales debe hacerse en forma concisa. Cuando las técnicas o procedimientos utilizados hayan sido publicados, deberán mencionarse, e incluir sólo los detalles de técnica que representan modificaciones substanciales del procedimiento original. Cuando se utilicen términos locales o regionalismos, éstos deberán ser aclarados mediante su denominación científica o de su uso general.

5. Resultados

Estos se presentarán en lo posible en Tablas y/o Gráficas que serán respaldadas por cálculos estadísticos, evitando la repetición de datos y seleccionando la forma que en cada caso resulte adecuada para la mejor interpretación de los resultados. Si hubiera subdivisiones ellas se encabezarán con un subtítulo.

- a) Las gráficas e ilustraciones deberán ser presentadas en fotografías de papel brillante, no montadas, y llevar el nombre del autor y el número correspondiente en el dorso. Cuando sea necesario deberá señalarse la parte superior e inferior de la gráfica.
- b) En caso de dibujos o esquemas, éstos serán realizados en tinta negra en papel de buena calidad. La ubicación de cada gráfica deberá indicarse, a lápiz, al margen del texto marginal. Los símbolos deberán especificarse en la propia gráfica.
- c) Los ejes (coordenadas) de las ilustraciones deben tener una indicación clave del fenómeno que representan, así como de las unidades de medida.
- d) Cada gráfica o ilustración deberá identificarse con la leyenda respectiva y contar con los datos imprescindibles para su interpretación.
- e) Las tablas deben numerarse según su orden de presentación en el texto y se entregarán en hojas aparte.
- f) Cada tabla debe contener un breve título que indique claramente su contenido. Las aclaraciones a las tablas deben hacerse mediante notas al pie, y se identificarán con letras minúsculas consecutivas colocadas como post-fijo superior en la cifra o valor correspondiente. Los encabezamientos de las columnas deben ser cortos o abreviados, incluyéndose, en nota al pie, una aclaración en caso necesario. Las líneas horizontales deben reducirse al mínimo y nunca usar las verticales.
- g) En cada columna se indicará claramente la medida usada por ej. mg/g, etc. Para concentraciones no se debe usar la expresión % sino, por ej. g/100 ó mg/100 ml. Se deben indicar con claridad todas las pruebas estadísticas usadas. Las tablas deben tener toda la información necesaria para su interpretación.
- h) No debe presentarse simultáneamente el mismo material experimental en forma de tablas y gráfica.

6. *Discusión*

Debe ser breve y restringirse a los hechos significativos del trabajo. Es recomendable usar subtítulos en las diversas secciones del manuscrito, indicando las diferentes materias tratadas. En caso que, a juicio de los autores, la naturaleza del trabajo lo permita, puede hacerse una discusión de los resultados inmediatamente después de su expresión, bajo el título general de **Resultados y Discusión**. Lo expresado en los incisos a) y h) en la sección precedente, aplican igualmente a esta sección.

7. *Resumen en inglés*

Todo trabajo deberá acompañarse de un resumen en inglés, si el trabajo original fuese en español, portugués o francés. El título del trabajo también debe redactarse en inglés. Si el trabajo original es en inglés, el resumen debe presentarse en español, así como el título del trabajo también en este idioma.

8. *Agradecimiento (si lo hubiere)*

9. *Citas bibliográficas y Referencias bibliográficas*

Las citas bibliográficas se indican con números arábigos en el texto, entre paréntesis y por orden de aparición, no por orden alfabético de autores.

Para la sección Referencias bibliográficas, al final del trabajo, se aplican las mismas normas y serán presentadas de acuerdo a los siguientes ejemplos:

- a) De revistas:
Liendo Coll, P & JM Bengoa. Necesidades calóricas de la población venezolana. Arch Venez Nutr 5:39-50, 1954.
- b) De libros:
Gómez P, F Silvio & R Gámora. Los Aminoácidos en alimentos. Caracas, Ed Futura, 1972, p.30.
- c) De libros sin autor individual:
Association of Official Agricultural Chemists. Official Methods of Analysis of the AOAC. 12th ed. Washington, DC, The Association, 1975, p. 30.
- d) De un artículo o capítulo de un autor(es) consignado en un libro publicado por casa editora:
Hoskins, WG & M Charles. Macaroni production. En: The Chemistry and Tecnology of Cereals as Food and Feed. SA Matz (Ed.). Westport, Conn, The Avi Publishing Co. 1959, p. 274-320.
- e) De citas de compendios:
Krebs, HA & K Henseleit. Urea formation in animal body. Z Physiol Chem, 210:33-66, 1932. (Original no consultado; compendiado en Chem Abst 26: 5624, 1923).

10. *Notas al pie de la página*

Las notas al pie de la página deben ser reducidas al mínimo. Cuando su inclusión sea necesaria deberá indicarse su orden de aparición en el texto mediante números arábigos, consecutivos colocados como post-fijo superior. (Estas notas se redactan, debidamente identificadas, en la 2a. hoja del manuscrito, después de la identificación de los autores).

11. *Abreviatura y siglas*

Se deben usar las abreviaturas aceptadas internacionalmente (American Chemical Society, Journal of Nutrition, British Journal of Nutrition). En caso de utilizarse siglas poco comunes, que se repitan frecuentemente en el manuscrito, deberán indicarse completas la primera vez que se citan, seguidas de la sigla entre paréntesis. De preferencia, deberán usarse las siglas internacionales en vez de la del idioma original del artículo, por ej. DNA, RNA, PER, etc. Todas las abreviaciones y siglas se usan sin punto, g, b, m, etc.

12. *Nomenclaturas*

Deberá usarse la nomenclatura de la Unión Internacional de Ciencias de la Nutrición (IUNS) para vitaminas y otros nutrientes. En las unidades de medición se empleará el Sistema Métrico Decimal. Para las unidades de energía se usarán calorías (Cal) o Joules (J) indiscriminadamente.

13. *Resultados numéricos*

Al consignar números se usará la coma (,) para indicar decimales, p. ej. 35,7; 389,9; y el punto (.) para indicar miles, millones, etc.

D. SEPARATAS

El costo de las separatas o sobretiros de los trabajos es de US \$3.00 por página de 50 separatas. El autor(es) deberá notificar a la Oficina Editorial el número de separatas deseado tan pronto se le informe que su trabajo ha sido aceptado.

E. CARGO POR PAGINA

La Revista es un órgano de divulgación científica sin fines de lucro y es mantenida fundamentalmente con donaciones. Sin embargo, a los efectos de contribuir con los gastos de publicación, la Asamblea General de SLAN ha creado un cargo de US \$ 10,00 por página de trabajo publicado. La Oficina Editorial puede considerar una reducción por concepto de cargo por página previa solicitud dirigida en ese sentido por el autor(es). Tan pronto como su factura sea cancelada, se les proporcionará 15 separatas libres de costo.

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.

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, actualmente en Venezuela, a los vocales representantes de Area o a los Capítulos de SLAN en los respectivos países.

El Consejo Directivo está integrado por: Eleazar Lara Pantin (Presidente), Hernán Delgado (Presidente Electo), Yolanda Hernández de Valera (Secretaria), Maritza Landaeta de Jiménez (Tesorera), Mauro Valencia (Vocal por México y Centro América), Rebeca de Angelis (Vocal por Brasil y Paraguay), Santiago Muzzo (Vocal por Argentina, Chile y Uruguay) y Manuel Grillo (Vocal por las Islas del Caribe).

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), que comparte actualmente la sede de la Sociedad en Caracas, Venezuela. Los manuscritos para publicación deben ser enviados al Editor General, Dr. Virgilio Bosch, o al Editor Asociado, Dr. José Félix Chávez P.

La correspondencia para SLAN o ALAN debe dirigirse al apartado 62.778, Chacao, Caracas 1060, Venezuela o a sus números de fax: 58 41 571475 y 58 2 284 8543.

¿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:**

Artes Finales: Amerik Solutions C.A., Caracas, Venezuela
Teléfono (02) 993.62.82

Portada: Chávez & López, Diseño Gráfico, Caracas, Venezuela
Teléfono (02) 285.55.29

Impresión: Refolit C.A., Caracas, Venezuela
Teléfonos (02) 93.38.31 - 93.02.64
Fax: (02) 93.70.08

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. Eleazar Lara Pantun
Presidente Electo	Dr. Hernán Delgado
Secretario	Dra. Yolanda H. de Valera
Tesorero	Dra. Maritza L. de Jiménez
Vocal	Dr. Mauro Valencia
Vocal	Dra. Rebeca De Angelis
Vocal	Dr. Santiago Muzzo
Vocal	Dr. Manuel Grillo
Presidente Saliente	Dr. Jaime Ariza Macía

DIRECTORIO DE ARCHIVOS LATINOAMERICANOS DE NUTRICION

Editor General	Dr. Virgilio Bosch Román
Editor Asociado	Dr. José Félix Chávez Pérez

MIEMBROS DEL CUERPO EDITORIAL PERIODO 1992 - 1994

Dr. Juan Alvarado	Dr. Franco M. Lajolo
Dr. Héctor Araya	Dr. Alfredo Lam-Sánchez
Dra. Julia Araya	Dr. Miguel Layrisse
Dr. Jaime Ariza M.	Dr. Reynaldo Martorell
Lic. Adriana Blanco M.	Dr. Luis A. Mejía
Dr. Héctor Bourges R.	Dra. Josefina Morales
Dr. Ricardo Bressani	Dr. Alejandro O'Donnell
Dr. Odoardo Brito A.	Dra. Nelly Pak
Dr. Adolfo Chávez	Dr. Nelson de Souza
Dr. Hernán Delgado	Dr. Jorge Rísquez T.
Dr. J.E. Dutra de Oliveira	Dr. Ricardo Uauy
Dr. Werner G. Jaffé	Dr. Enrique Yáñez S.

Archivos Latinoamericanos de Nutrición

Contenido

Páginas

EDITORIAL.....	1
ARTICULOS GENERALES	
Evaluación de la yuca como materia prima no convencional para la industria alimentaria. Violeta T. Pardio Sedas y Krzysztof N. Waliszewski Kubiak.....	2
TRABAJOS DE INVESTIGACION	
Nutrición Humana	
Lactose vs. lactose free regimen in children with acute diarrhoea: A randomized controlled trial. Juan M. Lozano and Jaime A. Cespedes.....	6
Efectos de diferentes niveles de almidón y fibra dietética de preparaciones sobre el consumo inmediato y subsecuente de preescolares de 24 a 48 meses de edad. Héctor Araya, Gloria Vera, Marcela Alviña, Andrés Fuentes, M. Teresa Oyarzun y Nelly Pak.....	12
Nutrición Animal	
Effect of addition of brewer's yeast to soy protein and casein on plasma cholesterol levels of rabbits. Jorge De Abreu and Nancy Millán.....	18
Ciencias de Alimentos	
Propiedades de malta diastásica de sorgo blanco. Helbert David Almeida Dominguez y Lloyd William Rooney.....	23
Functional properties of sunflower seed meal obtained by ethanol extraction. Marisa A.B. Regitano-d'Arce, Renata de Paula Assis and Urgel de Almeida Lima.....	29
Sunflower seed protein concentrates and isolates obtention from ethanol oil extraction meals- (Technical note). Marisa A.B. Regitano-d'Arce, Erika M. Roel Gutiérrez and Urgel de Almeida Lima.....	33
Barras de cereales, mani y amaranto dilatado: composición química y estabilidad en almacenamiento acelerado. Berta Escobar A., Ana María Estévez A., Magaly Vásquez D, Elena Castillo y Enrique Yáñez.....	36
Latin Foods: Composición de Alimentos	
Efecto de la maduración y el secado en el contenido de carotenoides pro-vitamina A en chile (<i>Capsicum annuum var. Anaheim</i>). Silvia Y. Moya, Luis A. Mejía, Elvira González de Mejía y Francisco A. Vázquez.....	41
Clasificación de mieles comerciales venezolanas. Patricia Vit, Isbelia González de Martorelli, y Santiago López-Palacios.....	47
Caracterización química y nutricional del amaranto (<i>Amaranthus cruentus</i>). Enrique Yáñez, Isabel Zacarías, Denise Granger, Magaly Vásquez y Ana María Estévez.....	57
NOTAS.....	63
INFORMACION PARA LOS AUTORES.....	64