

ALAN

Volumen 44. N° 2. Junio 1.994

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**
- **INSTITUTO NACIONAL DE NUTRICION. Venezuela**
- **Alimentos LE BISCUIT C.A.**

Archivos Latinoamericanos de Nutrición

Organo Oficial de la
Sociedad Latinoamericana de Nutrición

VOL 44

JUNIO 1994

Nº 2

Contenido

Páginas

EDITORIAL	67
ARTICULOS GENERALES	
Dietary fibre, what it is and how it is measured Claudia P. Sánchez-Castillo, Peter J.S. Dewey, Héctor Bourges and W. Philip T. James.....	68
TRABAJOS DE INVESTIGACION	
Nutrición Humana	
Fibra dietética y tumores gastrointestinales, implicaciones para la población mexicana Socorro Parra-Cabrera, María del Cielo Fernández-Ortega, Susan Vandale-Toney y Lizbeth López-Carrillo.....	76
Características actuales del bocio endémico en tres zonas censoredas de Chile Santiago Muzzo, Medardo Burgueño, Fresia Carvajal, Regina Moreno y Laura Leiva.....	82
Evolución de la desnutrición infantil en Chile y algunos de sus factores condicionantes: un análisis de series temporales Hugo Amigo, Luis Díaz, Paulina Pino y Gloria Vera.....	87

Bioquímica Nutricional

Dietary fish oil affects food intake, growth and hematologic values of weanling rats Zury Domínguez and Virgilio Bosch.....	92
Efecto de la restricción en el consumo de alimento de la rata adulta sobre el crecimiento y la composición tisular de la cría lactante Lourdes Barbosa y Soledad De Santiago.....	98
Efecto de la suplementación dietética con aceite de soya o marino en la reversibilidad de la deficiencia de ácido docosahexaenoico (22:6w3) en el cerebro y eritrocitos de ratas Julia Araya, Paz Robert y Cecilia Barriga.....	105
Estudio del comportamiento del hierro fijado sobre la caseína bovina y fosforilada luego de la hidrólisis producida por las proteasas digestivas Ana Luisa Medina Gallardo.....	112
Ciencias de Alimentos	
Deshidratación osmótica de manzana (Granny Smith) con diferentes soluciones osmóticas Edmundo Mercado -Silva y Daniel Vidal-Brotons.....	117
Substitución del afrecho de trigo por harina de almendra desgrasada de palma aceitera rica fuente de fibra dietética en la elaboración de galletas y panes Emperatriz Pacheco de Delahaye, María Cedres C., Alemar Alvarado y Ana Cioccia.....	122
Fortification of precooked maize flour with coarse defatted maize germ Francisco Rivero, Enzo Racca, Carlos Martínez-Torres, Peter Taylor, Irene Leets, Eleonora Tropper, María Nieves García-Casal, José Ramírez, Miguel Layrisse.....	129
DECLARACION DE QUITO PARA LA YODACION UNIVERSAL DE LA SAL.....	133
NOTAS.....	134
INFORMACION PARA LOS AUTORES.....	135

Archivos Latinoamericanos de Nutrición

Official Publication of the
Latin American Society of Nutrition

VOL 44

JUNE 1994

Nº 2

Contents

	Pages
EDITORIAL	67
GENERAL ARTICLES	
Dietary fibre, what it is and how it is measured Claudia P. Sánchez-Castillo, Peter J.S. Dewey, Héctor Bourges and W. Philip T. James.....	68
RESEARCH PAPERS	
Human Nutrition	
Dietary fiber and gastro-intestinal cancer, implications for the Mexican population Socorro Parra-Cabrera, María del Cielo Fernández-Ortega, Susan Vandale-Toney and Lizbeth López-Carrillo.....	76
Current characteristics of endemic goiter in three censor areas of Chile Santiago Muzzo, Medardo Burgueño, Fresia Carvajal, Regina Moreno and Laura Leiva.....	82
Evolution of infant undernutrition and some conditionant factors in Chile. An analysis of time series Hugo Amigo, Luis Díaz, Paulina Pino and Gloria Vera.....	87

Biochemical Nutrition

Dietary fish oil affects food intake, growth and hematologic values of weanling rats Zury Domínguez and Virgilio Bosch.....	92
Effect of food restriction consumed by dam rat during pregnancy and lactation on the postnatal growth and tissue composition of the pups Lourdes Barbosa y Soledad De Santiago.....	98
Reversal of brain and erythrocytes omega-3 docosahexanoic acid deficiency in the suckling rats by maternal dietary supplement containing either soybean oil or fish oil Julia Araya, Paz Robert and Cecilia Barriga.....	105
Behavior of iron on bovine and phosphorylated casein after hydrolysis produced by digestive protease Ana Luisa Medina Gallardo.....	112

Food Science

Osmotic dehydration of apple (Grany Smith) with diferents osmotic solutions Edmundo Mercado -Silva and Daniel Vidal-Brotons.....	117
Wheat bran substitution by defatted palm meal flour in fiber rich cookies and bread elaboration Emperatriz Pacheco de Delahaye, María Cedres C., Alemar Alvarado and Ana Cioccia.....	112
Fortification of precooked maize flour with coarse defatted maize germ Francisco Rivero, Enzo Racca, Carlos Martínez-Torres, Peter Taylor , Irene Leets, Eleonora Tropper, María Nieves García-Casal, José Ramírez, Miguel Layrisse.....	129
QUITO DECLARATION ON UNIVERSAL SALT IODIZATION.....	133
NOTES.....	134
INSTRUCTIONS TO AUTHORS.....	135

Editorial

¿La fortificación de los alimentos con hierro es perjudicial para la salud?

Aunque en las últimas tres décadas se ha insistido en el papel que juega el exceso de hierro en el organismo para el desarrollo de las infecciones, ha sido en los últimos años cuando se han publicado las consecuencias en otras enfermedades. Entre ellas, se destaca el artículo de autores finlandeses (*Circulation* 1992; 86:803), sobre la asociación de altos niveles de hierro de reserva y el riesgo a desarrollar infarto del miocardio; así como también en otro artículo, la relación entre la postmenopausia y el incremento de la enfermedad coronaria (*Ann Int. Med* 1978; 89:157). Así como el hierro es de vital importancia para el crecimiento de las bacterias para producir la infección, también el hierro es indispensable para el crecimiento anárquico de la célula cancerosa; el ejemplo más contundente es en la hemocromatosis en la cual el incremento de las reservas de hierro se cuantifican en gramos. En esa enfermedad hereditaria la prevalencia del cáncer del hígado es 200 veces mayor que en la población normal (*Biol. Trace. Elem. Research* 1992; 34:123). Este año la prensa narró que Richard Steven del Museo Nacional de Salud y Medicina en Washington publicó un artículo, señalando riesgo dos veces mayor de contraer cáncer en aquellos sujetos con niveles altos de hierro de reserva comparado con los sujetos con niveles normales de hierro. En los comentarios de esos artículos ha sido señalado que el enriquecimiento de las harinas en especial en los países desarrollados, podría favorecer el aumento de la prevalencia del cáncer y del infarto cardíaco.

Desde 1993 la dieta de la población venezolana ha tenido un incremento de consumo de hierro gracias al enriquecimiento de la harina precocida de maíz y de la de trigo.

De acuerdo a los mecanismos reguladores de la absorción del hierro en la mucosa intestinal, el hierro intrínseco de los alimentos y el hierro de la fortificación en las personas deficientes de hierro aumenta su tenor de absorción; en cambio, las personas con niveles normales de hierro de reserva absorben lo indispensable para mantener el metabolismo del hierro en condiciones normales. Ese comportamiento ha sido descrito claramente por el grupo de investigadores de Africa del Sur (*Am. J. Clin Nutr.* 1989; 49:162), quienes hicieron un seguimiento a un grupo de sujetos que recibían 7 mg diarios de hierro en el curry agregado a los alimentos bajo la forma de EDTA monoférrico. En el caso de Venezuela ya se implementó un seguimiento anual para valorar el impacto de la fortificación en una muestra representativa de la población.

Espero que los resultados del enriquecimiento de la dieta con hierro en Venezuela confirmen los resultados de Africa del Sur y se clarifiquen malos entendidos.

Miguel Layrisse

Dietary fibre, what it is and how it is measured

Claudia P. Sánchez-Castillo¹, Peter J.S. Dewey², Héctor Bourges¹ and W. Philip T. James.²

SUMMARY. Carbohydrates are the major component of the human diet and are an important source of energy. The World Health Organization recommends that 50-70% of ingested carbohydrates should be in the form of polysaccharides such as starch. A small proportion of dietary carbohydrate is in the form of non-starch polysaccharides (NSP) (Dietary Fibre). Dietary Fibre is a medically important component of the diet since epidemiological evidence links it with the etiology of various diseases. Scientists have engaged in trying to understand the mechanism by which dietary fibre prevents disease. This article highlights the lack of consensus on its chemical definition and the advantages and disadvantages of the two main methods used to measure it. These are the enzymic gravimetric method (AOAC) that measure fibre as the weight of residual matter following enzymic treatment of the food; and the enzymic chemical method that identifies and measures fibre from its chemical components. The latter method, proposed by Englyst and Cummings measures dietary fibre as NSP and gives detailed information about its components. This is important for interpreting epidemiological and physiological studies. The precise and confident measure of the different components of carbohydrates is important in Latin America. It will allow a coherent, scientific and rational approach to the role of carbohydrates in health.

RESUMEN. Fibra Dietaria: que es y como se mide. Los hidratos de carbono (HC) conforman la mayor parte de nuestra dieta y son una importante fuente de energía. La Organización Mundial de la Salud recomienda que del 55 al 75% de la ingestión total de energía la proporcionen los HC, pero del 50 al 70% deberían ser en la forma de polisacáridos tales como el almidón. Una pequeña proporción de los HC la constituyen los polisacáridos no amiláceos (NSP) a los cuales nos referiremos como «fibra dietaria». La importancia médica de este componente de la dieta ha conllevado a científicos de diversas partes del mundo a tratar de entender los mecanismos por los cuales la «fibra dietaria» tiene efectos fisiológicos particulares en el ser humano que previenen el desarrollo de padecimientos tales como cáncer y enfermedades cardiovasculares. Pero aún no existe un consenso internacional en su definición química y esto ha sido la mayor barrera para entender el papel que ésta juega en la dieta. En este artículo se exponen las dificultades para definir el término «fibra dietaria» así como las ventajas y desventajas de los dos principales métodos utilizados en su medición: el gravimétrico enzimático que mide la «fibra dietaria» como el peso residual de materia después que el alimento ha sido tratado, y el método químico enzimático que identifica y mide la «fibra dietaria» como sus componentes químicos. Ejemplo de este último es el propuesto por Englyst y Cummings que mide fibra dietaria como NSP (polisacáridos diferentes al almidón) y proporciona información detallada acerca de NSP pro medio de análisis en cromatografía líquida de gases la cual es importantes en la interpretación de estudios fisiológicos y epidemiológicos. La medición precisa y confiable de los diferentes componentes de los HC por medio de métodos químicos enzimáticos es importante para América Latina. Esto permitirá un abordamiento coherente, científico y racional al análisis del papel que los hidratos de carbono juegan en la salud.

INTRODUCTION

Carbohydrates are quantitatively the major component of our food and represent about 50% of the daily dry matter intake of food. They are important as an energy source and play an important role in the body as glycoproteins and

glycolipids in determining cellular structures and cell-surface characteristics, including the specificity of some receptor sites. In developed countries, carbohydrates provide about 45% of total energy intake with nearly half of this energy coming from sugar, whereas in developing countries up to 75% of dietary energy is obtained from carbohydrates (1). The World Health Organization recommends that carbohydrates provide 55-75% of total energy intake (2), with 50-70% of carbohydrate in the form of polysaccharides such as starch, with oligosaccharides and simple sugars like glucose, fructose and sucrose making up the difference. A small proportion of dietary carbohydrate is in the form of non-starch

1 Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubirán, Subdirección de Nutrición, Experimental y Ciencia de los Alimentos. Vasco de Quiroga 15, Tlalpan, México 14000, D.F.

2 The Rowett Research Institute, Greenburn Road, Bucksburn, Aberdeen AB2 9SB, Great Britain.

polysaccharides (NSPs) (dietary fibre) (Table 1) (3) and these constitute around 5% or less of the total diet. NSPs do not provide carbohydrates to the body but are a source of energy via their fermentation products, i.e. the volatile fatty acids that are absorbed and thus contribute to the body's fuel supply. NSP levels can range from less than 1% in cornflakes to up to 50% in brans, with a wide range for cereals, fruits and vegetables (4). Small as this fraction of NSPs appears to be, its significance for humans has become increasingly apparent. Epidemiological evidence has emerged that relates fibre intake to the etiology of diseases such as appendicitis (5), diverticular disease (6-8), constipation (9,10), diabetes (11-15), obesity (16), stroke (17) and ischemic heart disease (18-21). Evidence also indicates that diet rich in fibre may be protective against cancer (22) of the breast (23), ovary and endometrium, and the majority of individual case-control epidemiological studies suggest that foods rich in fibre are protective against colo-

rectal cancer, although this association is with vegetables, rather than cereal consumption (24). There is circumstantial evidence that fibre-depleted diets favour the development of cholesterol-rich gall stones, dental disease, and probably other disorders such as haemorrhoids, other common anal conditions and varicose veins (25).

Dietary fibre is therefore a medically important component of the diet (21). Scientists from different parts of the world have engaged in the difficult task of trying to understand the mechanisms by which dietary fibre has a particular physiological effect in humans for preventing the appearance of disease. Analysis of fibre in a wide range of foods has been undertaken worldwide to assess how much and which type of fibre individuals eat. A number of methods, gravimetric or chemical, have been developed, each with distinctive features that account for the differences in the results obtained by different approaches (26) to the measurement of the «fibre» fraction.

TABLE 1
NON-STARCH POLYSACCHARIDES (NON ALPHA-GLUCAN POLYSACCHARIDES)*

Class	Description	Solubility at pH 7.0	Monomers	Occurrence
Cellulose	Unbranched beta 1-4 glucan	Insoluble	Glucose	Very widely distributed especially leafy vegetables, peas, beans, and rhubarb
Non-Cellulosic Polysaccharides	Diverse Mixture:			
	Pectins	Soluble	Galacturonic acid	Mainly fruit and vegetables
	Glucans	Soluble	Glucose	Oats, barley, rye
	Arabinogalactans, arabinoxylans	Partly soluble	Arabinose, xylose, galactose, glucose	Wheat, rye, barley
	Gums: gum arabic sterculia	Soluble Soluble	Galactose, Rhamnose, galactose, arabinose	Plant gums used as food additives.
	Mucilages: ispaghula	Soluble	Arabinose, xylose	Seed mucilage of <i>Plantago ovata</i>
	Storage: inulin, guar	Soluble Soluble	Fructose Galactose, mannose	Jerusalem artichokes: to a lesser extent in other root vegetables.
Fungal: chitin	Insoluble	Amino sugars	Mushrooms and other fungi, exoskeletons of crustacea e.g. shrimps and prawns.	

* Department of Health U.K. (1991) (3)

Definition of Dietary Fibre

Despite the many reviews of the term dietary fibre (27-29) there is no international consensus on its chemical definition and this has been a major barrier to the understanding of its roles in the diet. The term «dietary fibre» was introduced by Hipsley in 1953 and described as material derived from the plant cell wall in foods (30). In 1972 Trowell defined dietary fibre as “the skeletal remains of plant cells that are resistant to digestion by enzymes of man” (31), a definition that he later refined by restricting the term dietary fibre to the sum of polysaccharides and lignin that are undigested by the endogenous secretions of the human digestive tract (32).

Definition of Non-Starch Polysaccharides

Although the introduction of this idea signified an advance in thinking, criticism of this definition arose (25,33) since it focused attention on the indigestibility of dietary fibre and ignored other physiological properties, such as the effect of fibre on the digestion and absorption in the small intestine of other nutrients. It also implied that dietary fibre is unavailable for metabolic use (34), even though it has been known for a long time that most forms of fibre are degraded by bacterial enzymes in the lower bowel, releasing short-chain fatty acids (e.g. acetic, propionic and butyric acids) that are absorbed and metabolized (35). This fibre cannot be defined as unavailable carbohydrates.

New concepts in starch digestion have also been emerging (36-38), with studies showing that a considerable amount of starch escapes digestion in the small intestine. Starch becomes resistant to alpha amylase digestion during the cooling stages of food processing or by cooling starch after cooking to produce «resistant starch». During cooking caramelization also occurs, and Maillard polymers are formed (39). All these later findings show that the simple issue of indigestibility is not enough to allow a dietary component to be classified as dietary fibre. Thus, the 1976 definition by Trowell, Southgate et al. which excluded many indigestible compounds from the definition and aimed to measure DF as the cell-wall polysaccharides (NSP) plus lignin has some merit and has led to the demand for an analysis based on chemical criteria.

Cummings and Englyst suggested by 1978 (40,41) that fibre should be measured as non-starch polysaccharides (NSP) in plant foods and later argued against the inclusion of lignin in the measurement of dietary fibre, since lignin is not a carbohydrate and its physiological significance (in animal studies) is very different from that of NSP. Lignin is also quantitatively a minor component in the human diet and is difficult to determine (42). It has been proposed that lignin should be considered and measured separately, since the linking of values for NSP and lignin together is arbitrary from a physiological perspective. To measure both together therefore may invalidate an assessment of the true significance of both

components (43). More recently it has also been proposed that the term «dietary fibre» should become obsolete for scientific purposes since it leads to considerable confusion with endless arguments about what should or should not be included in the definition (44). Since NSPs form the major fraction of «dietary fibre» whatever definition is used, then by selecting NSPs as the basis for the new definition it is possible for these components to be chemically identified and measured with reasonable precision. The plant cell-wall NSPs form the skeletal component of plant cells and this is the component of the diet that, in practice, has been linked to effects when assessed in physiological and epidemiological studies. We therefore conclude that the definition of fibre should now be based on the cell-wall component of the non-starch polysaccharides in food.

The Analysis of Dietary Fibre

Crude Fibre

The first measurements on fibre were probably made in the last century using the Weende System (named after a town in Germany) for the analysis for crude fibre. This method was developed by Einhoff in 1806 for predicting forage digestibility in animal foodstuffs (42). It is a gravimetric method, i.e. one based simply on measuring the residual weight of material after the feed has been hydrolyzed first in dilute acid and then in alkali, then dried and weighed; this residue is called «crude fibre». As well as removing starch, sugar, protein and minerals from the food, various amounts of cellulose, hemicellulose and lignin are also solubilized by this treatment so a very variable measure of plant cell-wall material is obtained. However, this method had an established place in animal nutrition as a very simple and approximate method of predicting the fermentability of forages. The persisting use of crude fibre values in human food tables is however extraordinary. These values have no place in the modern approach to dietary fibre and are not relevant to human nutrition, since deficiencies in this method have been recognized for over a hundred years. Cummings, in his review (27), lists the main problems of the method as:

1. It is not a good predictor of the nutritive value of a feed for man.
2. The value obtained is extremely method-dependent and insensitive at the low levels of crude fibre found in many human foods.
3. Cell-wall constituents are underestimated; for example, the crude-fibre content of wholemeal flour is 2% while the actual amount of total cell-wall constituents is approximately 11 to 12%. With the development of more precise methods for measuring the components of the plant cell wall, it is now known that the crude-fibre method recovers approximately 50-80% of the cellulose, 10-50% of the lignin and 20% of the hemicelluloses.

4. A more important deficiency of the method, however, is that it recovers a variable and unpredictable proportion of the total cell-wall constituents of a plant.

Neutral Detergent Fibre

A modern and simple approach to the gravimetric determination of fibre is that of Goering and Van Soest (45). They developed the Neutral Detergent Fibre method for animal foodstuffs but now use it in the human field as well. A version of this method is the standard American Association of Cereal Chemists (AACC) method for dietary fibre (46). The sample is weighed, defatted and dried briefly. Buffered neutral sodium dodecyl sulphate (a detergent) is then added and the sample is boiled. Starch is gelatinized and solubilized by this procedure. After 30 minutes more solution is added together with the enzyme alpha amylase and incubated before the solution is again boiled for a further 30 minutes. The residue consisting of cellulose, hemicellulose and lignin is then filtered. A second amylase treatment is given to remove any remaining starch, and the residue is then washed, dried and weighed. This residue contains the fibre and mineral fractions of the plant. The residue is then ashed and the loss in weight is a measure of dietary fibre content. Once recognized problem is that the neutral detergent solution also solubilizes the pectins present in the sample, so the method has limited use for those human foods with appreciable amounts of pectin material.

AOAC Prosky Method

Further methods for dietary fibre analysis have been developed. The methods described rely on a similar approach to that of Van Soest, namely attempted solubilization of the starch by enzymes, which then leaves the plant cell-wall fraction. The method proposed by Prosky and others (47,48) is a gravimetric approach that allows the separation of fibre into soluble and insoluble forms, but does not identify the types of monosaccharide involved. The original method was based on the work of Asp et al (49). The aim of the method was to measure cell-wall material. The sample is first gelatinized in buffer solution before being treated with Termamyl, a thermally stable amylase that partly hydrolyzes the starch. An acid pepsin is used to hydrolyze the protein and an incubation with pancreatin completes the hydrolysis stage. The dietary fibre is then separated by precipitation and filtration, leaving free sugars and solubilized protein in solution. The dietary fibre residue is washed, dried and weighed, and then any residual protein is determined in one replicate and ash content in the other. The fibre is then taken as the weight of residual material once an allowance has been made for the estimated weight of the protein and ash components.

The current AOAC method differs from the Asp procedure because a milder treatment with a neutral protease is used instead of acid pepsin to remove protein. An amyloglucosidase

enzyme is then used to hydrolyze the starch to glucose. The rest of the procedure is exactly the same. Disadvantages of the method include the long filtration times for some types of food and the need to correct for the protein and ash content of the residue. The gravimetric procedure requires that all the components from different plants react to the enzyme treatment and filtration in the same way. However, it is now known that the residue includes, in addition to cell-wall material, some starch retrograded during food processing and other substances such as tannins and co-precipitated non-carbohydrate materials. The inclusion of retrograded starch and other substances formed during food processing as part of the measured residue gives rise to higher values for the dietary fibre content, so the AOAC value can readily be manipulated by industrial processing. From the analytical viewpoint it also uses techniques that have long been superseded by modern methods of carbohydrate chemistry. Furthermore a gravimetric residue containing NSP, starch and non-carbohydrates in unknown proportions is impossible to interpret. Nevertheless this method remains popular with industrialists and their associated scientists.

Englyst analysis of Non-Starch Polysaccharides

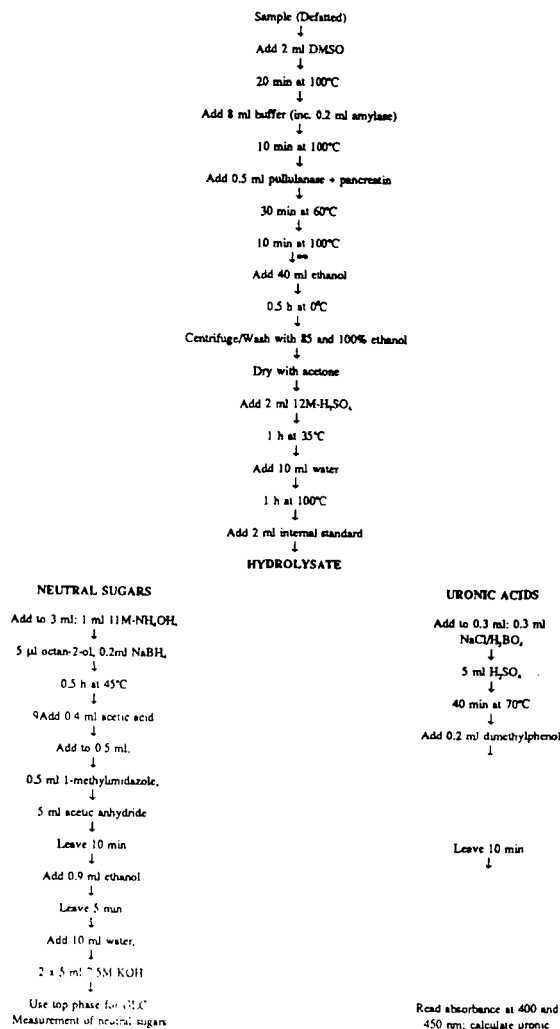
A more sophisticated approach to dietary fibre measurement is one in which the chemical components of the dietary fibre are identified and measured. Methods of this type have evolved from the principles laid down by Southgate in 1969 (50). His analyses of the non-available carbohydrates of foods are the basis for the dietary fibre data in the British food tables, i.e. McCance and Widdowson's Tables of Food Composition (51). The food sample is extracted with 80% methanol to remove free sugars, then with ether to remove fat. It is then treated with alpha amylase to remove starch. Soluble and insoluble dietary fibre residues are separated. Each is then analyzed by sequential acid hydrolysis into constituent sugar residues giving data on cellulosic and non-cellulosic sugars, hexoses, pentoses and uronic acids. The procedure is very detailed and was originally quite lengthy.

The method of Englyst (41) was evolved from the principles of the Southgate method and uses gas-liquid chromatography to separate, identify and quantify the monomeric sugar residues of the non-starch polysaccharides. Englyst has also devised methods for the separate measurement of resistant starch (43) and defined three forms of resistant starch. These resistant starches have a variety of effects in the colon and need to be considered separately from the components of NSP which form the plant cell walls.

The scheme for the non-starch polysaccharide method is shown in Fig. 1. The sample, defatted if necessary, is dispersed in dimethylsulphoxide. This breaks up the hydrogen bonding in resistant starch, making all the starch available to attack by alpha amylase enzymes. Buffer and the enzymes pancreatin and pullulanase are added, and the solution is incubated overnight to hydrolyze the starch to glucose. The non-starch

polysaccharides are precipitated in 80% ethanol and recovered by centrifugation. The non-starch polysaccharide residue is washed to remove all soluble sugars then dried. The dried residue is then hydrolyzed in acid, which breaks up the polysaccharides into their constituent monosaccharides. This method has been developed further to speed up the procedure and a faster version is currently in use. By the use of a thermostable amylase, the starch hydrolysis step has been cut from 16 hours to 1 hour, and the time for acid hydrolysis of the dietary fibre to release the constituent monosaccharides has been decreased by increasing the strength of the acid used for hydrolysis (52).

FIGURE 1
Determination of total, soluble and insoluble dietary fibre
by the Englyst procedure



* Total NSP=Neutral Sugars + Uronic Acids

Soluble NSP = Total NSP - Insoluble NSP

** For measurement of Insoluble NSP, replace the 40 ml ethanol with 40 ml pH7 buffer and extract for 20 min at 100°C and centrifuge

The amounts of monosaccharides released from the NSP can then be determined in either of three ways:

- Simply by colorimetry, measuring the color produced by reacting the sugars with a color reagent. This method is rapid and gives values for total, soluble and insoluble non-starch polysaccharides. It has recently been modified slightly to reduce the production of color by non-sugar components in the sample (53).
- By gas-liquid chromatography for neutral sugars and colorimetry for uronic acids. This method identifies and quantifies the individual monosaccharide species released from NSP.
- By high pressure liquid chromatography using an ion exchange column and electrochemical detection of the separated monosaccharides (54).

By changing the reagents used in the method the amounts and constituent sugars of a variety of components are obtained: total non-starch polysaccharides, insoluble fibre, soluble dietary fibre (by difference), cellulose, non-cellulosic polysaccharides, uronic acids and resistant starch.

DISCUSSION

Different approaches to the measurement of dietary fibre have been developed and these are divided into two main methods: the enzymatic gravimetric methods and the enzymatic chemical methods.

The gravimetric methods measure dietary fibre as the residual weight of material after the food has been treated with starch and protein-degrading enzymes and after correction for the ash and nitrogen content of the residue. An example of such a method is that proposed by Prosky et al (48) which includes in the measurement part of the starch that is retrograded as the result of food processing. Lignin and substances measured as lignin are also included and, on this basis, the Prosky or AOAC methods claim that they are methods that reflect the physiological principles of indigestibility. Unfortunately as yet there is little evidence for this claim. The use of physiological enzymes and the weighing of the residue is considered to leave NSP plus resistant starch in the final sample. This approach partly explains why, for example, the AOAC method gives a fibre content of cornflakes which is much higher than when NSP is measured directly by the Englyst method: the extra weight is thought to reflect the retrograded starch plus Maillard products produced during the processing of the cornflakes. The increased residue after processing explains why food manufacturers, who often seek to claim extra health benefits for their foods because of their fibre content, prefer the AOAC method with its higher results to the NSP measures. By manipulating the processing of the starch, e.g. by heating and cooling, they can increase the resistant starch content of the food and therefore claim, with the AOAC method, extra fibre in their products.

The AOAC method is still being refined as more sources of the physical variability in the filtration process or in the hydrolysis are found. However, the claimed physiological principle is becoming suspect now that it is clear that many compounds escape digestion and therefore will be included in this AOAC method. Yet, in practice, all the supposed advantages of fibre feeding seem to relate to the plant cell-wall NSPs and it is far from clear that the other compounds contribute to the beneficial effects of these plant foods. Thus, feeding experiments with fibre (55) clearly showed the value of NSP in determining faecal bulking and the epidemiological relationships between fibre-rich foods and disease relate best to the NSPs of cell-wall origin. Those who seek to establish the physiological validity of the AOAC method will find it difficult because the method cannot be used on physiological fluids, e.g. ileal luminal contents or faeces, because of the ready interference with the physical filtration of the sample by additional mucus and other endogenous secretions. Given these problems it seems best to work with chemical methods and chemically defined fractions.

The enzymatic chemical methods identify and measure dietary fibre as its chemical components. An example of this

method is that proposed by Englyst and Cummings (36). They measure dietary fibre as non-starch polysaccharides where starch is completely removed. The method gives detailed information about dietary fibre by GLC analysis, which is important in the interpretation of physiological and epidemiological studies. However, these detailed analyses of the constituent sugars are not always necessary for routine work or for food labelling. In this case the more rapid colorimetric method could be used since good agreement has been shown between the analytical values for a wide range of foods measured by GLC and colorimetry (56), particularly with the latest small change to reduce the time for color development (53). The GLC procedure is also valid for the analyses of gut content and faecal samples.

A classification of carbohydrates has already been proposed by Englyst, Kingman and Cummings (43) (Table 2). For nutritional purposes starch in foods may be classified into rapidly digestible starch (RDS), slowly digestible starch (SDS) and resistant starch (RS). The RS may be further divided into three categories according to the reason for its resistance to hydrolytic attack.

TABLE 2
IN VITRO NUTRITIONAL CLASSIFICATION OF STARCH

Type of starch	Example of occurrence	Probable digestion in small intestine
Rapidly digestible starch (RDS)	Freshly cooked starchy food	Rapid
Slowly digestible (SDS) starch	Most raw cereals	Slow but complete
Resistant starch (RS)		
1. Physically inaccessible starch.	Partly milled grains and seeds	Resistant
2. Resistant starch granules	Raw potato and banana	Resistant
3. Retorgraded starch	Cooled, cooked potato, bread and corn-flakes	Resistant

This issue of resistant starch has recently been the subject of a concerted action with the agroindustrial research programme of the commission of the European Communities (57), where resistant starch is defined as «the sum of starch and products of starch degradation not absorbed in the small intestine of healthy individuals». New efforts are now being made to assess the resistant starch intake in various countries. This calls for accurate and separate measures of NSP and starch as well as accurate measures of food intake. In Latin America where diets are changing rapidly there is therefore a

need to move away from the use of the AOAC Prosky method for assessing so-called fibre intakes until a more coherent, scientific and rational approach can be made to the analysis of the role of dietary carbohydrates in health.

CONCLUSION

It is becoming clear that dietary fibre is of great interest to nutritionist and doctors but the problems of defining and measuring dietary fibre are so great that the many different

approaches and changes to the definition and analysis have brought great confusion. Whilst a simple gravimetric method accepted by the AOAC for measuring fibre is very popular, a more rigorous scientifically-based approach is now emerging. Dietary fibre should be classified as a dietary carbohydrate and the cell-wall non-starch polysaccharides are those which contribute 90% or more of the skeletal remains of the plants which is the essence of the definition. There are now simple and robust methods for measuring this fraction of indigestible carbohydrates. These methods, developed by Englyst, have been rigorously tested, evaluated in trials and published in considerable detail. Future research will now be helped by using specific measures of dietary carbohydrates to quantify accurately intakes of dietary fibre and also allow a better understanding of the importance of other malabsorbed carbohydrates which should not be included in the definition of fibre.

ACKNOWLEDGMENTS

Our thanks are due to the Ministry of Health in Mexico (Department of International Relations), the Scottish Office Agriculture and Fisheries Department, the British Council and the Nestlé Company in Mexico for their support.

REFERENCES

- Human Nutrition and Dietetics. Eds. Davidson S., Passmore R., Brock JF., Truswell AS. 6th Ed. Churchill Livingstone, Edinburgh, London and New York, 1975, pp. 555.
- World Health Organization. Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. Report of a WHO study group. WHO Technical Report Series 797, World Health Organization, Geneva, 1990.
- Department of Health. Dietary Reference Values for Food Energy and Nutrients for the United Kingdom. Report on Health and Social Subjects 41. Report of the Panel on Dietary Reference Values of the Committee on Medical Aspects of Food Policy. London: HMSO, 1991.
- Berry C. Putting a figure on dietary fibre. *Nut Food Sci* 1:8-10, 1985.
- Walker AR & I Segal. What causes appendicitis? *Gastroenterol* 12(2):127-129, 1990.
- Melange M & R Vanheuverzwyn. Etiopathogenesis of colonic diverticular disease; role of dietary fiber and therapeutic perspective. *Acta Gastroenterol Belg* 53(3):346-350, 1990.
- Watters DA & AN Smith. Strength of the colon wall in diverticular disease. *Br J Surg* 77(3): 257-259, 1990.
- Kay RM. Dietary fiber. *J L Res* 23: 221-242, 1982.
- Giacosa A., SG Sukkar, F. Frascio & M Ferro. Sugar beet fibre: A clinical study in constipated patients. In: *Dietary Fibre: chemical and biological aspects*. DAR Southgate, K Waldron, IT Johnson & GR Frenwick eds. Royal Society of Chemistry. Special Publication N° 83. 1990.
- Brodribb AJM. Dietary fibre as a tool of the clinician. In: *Dietary Fibre*. Birch GG & Parker KJ eds. London and New York: Applied Science Publishers, pp. 195-204. 1983.
- Sels JPJE, Th J Postmes, BHR Wolffbuttel & AC Nieuwenhuijzen Kruseman. Dietary fibre in the management of diabetes mellitus: a review. *Netherlands J Med* 38: 265-277, 1991.
- Rinfel J., C Ruzza, G. Mozsik & T Javor. Hormonal changes during administration of dietary fibers in patients with decreased glucose tolerance. *Orb Hetil* 131(4): 175-177, 1990.
- Anderson JW, BM Smith & PB Geil. High-fiber diet for diabetes. Safe and effective treatment. *Postgrad Med* 88(2): 157-168, 1990.
- Weinstock RS & RA Levine. The role of dietary fiber in the management of diabetes mellitus. *Nutr* 4(3): 187-193, 1988.
- Hockaday TDR. Fibre in the management of diabetes. 1. Natural fibre useful as part of total dietary prescription. *Br Med J* 300: 1334-1336, 1990.
- Krotkiewski M & ULF Smith. Dietary fibre in obesity. In: *Dietary Fibre Perspectives: reviews and bibliography*. 1. Leeds Anthony R., Avenell Alison eds. London, Paris: John Libbey and Company Limited, 1988th ed, pp. 61-67, 1985.
- Acheson RM & DRR Williams. Does consumption of fruit and vegetables protect against stroke? *Lancet* 1:1191-1193, 1983.
- Davidson MH, LD Dugar, JH Burns, J Bova, K Story & KB Drennan. The hypocholesterolemic effects of beta-glucan in oatmeal and oat bran. *JAMA* 265:1833-1839. 1991.
- Kromhout D., EB Bosshueter & C de Lezenne Coulander. Dietary fibre and 10 year mortality from coronary heart disease, cancer and all causes. *Lancet* 2:518-521, 1982.
- Judd PA & AS Truswell. Dietary fibre and blood lipids in man. In: *Dietary Fibre Perspectives: reviews and bibliography* 1. Leeds Anthony R., Avenell Alison eds. London, Paris: John Libbey and Company Limited, 1988th ed, pp. 23-29, 1985.
- Schweizer TF & P Wursh. The physiological and nutritional importance of dietary fibre. *Experientia* 47:181-186, 1991.
- Doll R. The lessons of life: Keynote address to the Nutrition and Cancer Conference. *Can Res (Suppl)* 52:2024s-2029s, 1992.
- Rose DP. Dietary fiber, phytoestrogens and breast cancer. *Nutr* 8(1): 47-51, 1992.
- Ferguson EF Jr & BT McKibben. Preventing colorectal cancer. *South Med J* 83(11): 1295-1299, 1990.
- Royal College of Physicians of London. medical aspects of dietary fibre. Pitman Medical Limited, 1980.
- Marlett JA. Issues in dietary fiber analysis. In: *New developments in dietary fiber. Advances in Experimental Medicine and Biology*, Vol 270. Eds I Furda & CJ Brine. Plenum Press, New York, 1990.
- Cummings JH. What is fiber? In: *Fiber in Human Nutrition*. Spiller Gene A & Amen Ronald J eds. 1976th ed. New York, London: Plenum Press, pp.1-30, 1976.
- Trowell Hugh C. Dietary fibre in human nutrition: a bibliography to 1977 (1985). In: *Dietary Fibre Perspectives: reviews and bibliography* 1. Leeds Anthony R., Avenell Alison eds. London, Paris: John Libbey and Company Limited, 1988th ed, pp.107-167, 1985.
- Avenell A., AR Leeds & HC Trowell. Dietary Fibre in Human Nutrition: a bibliography for 1978-1982. In: *dieatry Fibre Perspectives: review and bibliography* 1. Leeds Anthony R., Avenell Alison eds. London, Paris: John Libbey and Company Limited, 1988th ed, pp. 169-344, 1985.
- Hipsley EH. Dietary «fibre» and pregnancy toxemia. *Br Med J* 2:420-422, 1953.

31. Trowell H. Ischaemic heart disease and dietary fiber. *Amer J Clin Nutr* 25:926-932, 1972.
32. Trowell H, DAR Southgate, TMS Wolever, AR Leeds, MA Gassull & DJA Jenkins. Dietary Fibre Redefined. *Lancet* 1:967, 1976.
33. Heaton KW. Dietary fibre: concepts and definitions. In: *Fibre in human and animal nutrition*. Wallace G, Bell L eds. New Zealand: Royal Society of New Zealand, pp. 19-21, 1983.
34. Ellis PR. Fibre in food products. In: *Dietary Fibre Perspective: reviews and bibliography 1*. Leeds Anthony R, Avenell Alison eds. London, Paris: John Libbey and Company Limited, pp. 83-105, 1985.
36. Englyst H, HS Wiggins & JH Cummings. Determination of the non-starch polysaccharides in plant foods by gas-liquid chromatography of constituent sugars as alditol acetates. *Analyst* 197:307-318, 1982.
37. Englyst HN, HW Trowell, DAT Southgate & JH Cummings. Dietary fiber and resistant starch. *Am J Clin Nutr* 46:873-874, 1987.
38. Englyst HN & JH Cummings. Resistant starch a «new» food component: a classification of starch for nutritional purposes. In: *Cereals in a European context*. Morton I, ed. Chichester: Ellis Horwood Ltd, pp.221-233, 1987.
39. Van Soest PJ. Dietary fibers: their definition and nutritional properties. *Am J Clin Nutr* 31:S12-S20, 1978.
40. Cummings JH & HN Englyst. Fermentation in the human large intestine and the available substrates. *Am J Clin Nutr* 45: 1243-1255, 1987.
41. Englyst HN & JH Cummings. Non-starch polysaccharides (dietary fibre) and resistant starch. In: *New developments in dietary fibre*, I Furda & CJ Brine eds. New York: Plenum Press, pp. 205-225, 1990.
42. Van Soest PJ & RW McQueen. The chemistry and estimation of fibre. *Proc Nutr Soc* 32:123, 1973.
43. Englyst HN, SM Kingman & JH Cummings. Classification and measurement of nutritionally important starch fractions. *Eur J Clin Nutr* 46 (Suppl 2): S33-S50, 1992.
44. British Nutrition Foundation. *Complex Carbohydrates in Foods*. Report of the British Nutrition Foundation's Task Force. Champan & Hall, 1990.
45. Goering HK & PJ Van Soest. *Forage Fibre Analysis (Apparatus, Reagents, Procedures and Some Applications)*. Agriculture Handbook N° 379, Washington DC: Agricultural Research Service, USDA, 1970.
46. Association of American Cereal Chemists Technical Report «Cereal Foods World», (1981), 26:295. AACC Method 32-20. First Approval 10/26/77. Methods of the AACC Minneapolis., MN.
47. Prosky L, NG Asp, I Furda et al. Determination of insoluble, soluble and total dietary fiber in foods and food products: collaborative study. *J Assoc Off Anal Chem* 68:677-679, 1985.
48. Prosky L, NG Asp, TF Schweizer et al. Determination of insoluble, soluble and total dietary fiber in foods and food products: interlaboratory study. *J Assoc Off Anal Chem* 71:1017-1023. 1988.
49. Asp NG. Critical evaluation of some suggested methods for assay of dietary fibre. *J Plant Foods* 3:21, 1978.
50. Southgate DAT. Determination of carbohydrates in foods. II Unavailable carbohydrates. *J Sci Food Agric* 20:331, 1969.
51. Paul AA & DAT Southgate. McCance and Widdowson's *The Composition of Foods*, 4th Edition. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, and Medical Research Council, London: HMSO, 1978.
52. Englyst HN, ME Quigley, GJ Hudson & JH Cummings. Determination of Dietary Fibre as Non-starch Polysaccharides by Gas-liquid Chromatography. *Analyst* 117:1707-1714, 1993.
53. Englyst HN, ME Quigley & GJ Hudson. Determination of dietary fibre as non-starch polysaccharides with gas liquid chromatographic, high performance liquid chromatographic or colorimetric measurement of constituent sugars. *Analyst* (in press).
54. Quigley ME & HN Englyst. Determination of neutral sugars and hexosamines by HPLC with pulsed amperometric detection. *Analyst* 117:1715-1718, 1992.
55. Cummings JH, WJ Branch, DJA Jenkins, DAR Southgate, H Houston & WPT James. Colonic response to dietary fibre from carrot, cabbage, apple, bran and guar gum. *Lancet* i: 5-9, 1978.
56. Sánchez-Castillo CP, P Dewey, S Finley & WPT James. The dietary fibre content (non-starch polysaccharides) in Mexican fruits and vegetables. (Unpublished data).
57. European Flair concerted Action N° 11 (Cost 911). Physiological implications of the consumption of resistant starch in man. *Eur J Clin Nutr* 46 (Suppl.2), 1992.

Recibido: 17-12-1993

Aceptado: 08-04-1994

Fibra dietética y tumores gastrointestinales, implicaciones para la población mexicana

Socorro Parra-Cabrera¹, María del Cielo Fernández-Ortega², Susan Vandale-Toney³ y Lizbeth López-Carrillo⁴

RESUMEN. Algunos nutrimentos ejercen influencias particulares en el desarrollo o bien en la protección contra las enfermedades crónicas y/o degenerativas. Entre otros problemas dietéticos implicados en este contexto, se ha observado que la ingestión abundante de fibra dietética actúa como un factor protector contra las neoplasias del aparato digestivo. Numerosos artículos científicos han sugerido mecanismos por medio de los cuales la fibra dietética ejerce un efecto protector importante contra el cáncer de colon y en menor grado cánceres del estómago y del recto. En México para 1990, los tumores malignos constituyeron la segunda causa de mortalidad general en la población de 65 años y más. De acuerdo a los registros sobre el cáncer en la República Mexicana, los tumores del tubo digestivo fueron la tercera causa de importancia y el carcinoma gástrico se reportó más frecuentemente, seguido por el de colon y recto. No se sabe hasta que punto la migración urbana y las modificaciones concomitantes en la dieta de la población, actúen como cofactores en el incremento de éste tipo de neoplasias. En la década de los setentas, diversas investigaciones realizadas en población mexicana mostraron un alto consumo de fibra a partir de una dieta basada principalmente en la tortilla y el frijol. Hoy en día los patrones de alimentación se han modificado. El creciente consumo de alimentos concentrados en energía y de bajo valor nutricional, se asocia con un bajo aporte de fibra. El presente documento tiene como objetivo, comentar sobre los riesgos a los que se expone la población para desarrollar algún tipo de neoplasia gástrica o intestinal debido a la incorporación de patrones dietéticos inadecuados, que se caracterizan por incluir entre otros factores, el desplazamiento de la fibra dietética en la alimentación.

Palabras Claves: dieta, fibra dietética, tumores gastrointestinales, cáncer de colon.

SUMMARY. Dietary fiber and gastro-intestinal cancer, implications for the Mexican population. Certain nutrients serve as individual influences in the development or protection against chronic and/or degenerative diseases. Specifically, it has been observed that the abundant consumption of dietetic fiber is a protective factor against tumors of the digestive system. Many scientific articles have reported mechanisms by which dietetic fibers exert an important protective effect for colon cancer and in lesser degree against cancer of the stomach and rectum. In Mexico during 1990, neoplasms were the second cause of general mortality for the persons over the age of 65 years. The Fourth National Report of Cancer in Mexico revealed that tumors of the digestive tube were the third most frequent type of neoplasm in the country and that stomach cancer had the greatest incidence among cancers which affect this system. To date, we do not know how much the urban immigration and the consequent changes in food patterns have acted as cofactors for the increase in this type of tumors. During the seventies, a number of national and regional nutritional surveys showed that the Mexican population had a high consumption of fiber, as part of the traditional diet, comprised primarily of tortilla and beans. At the present time, the national dietary patterns have changed; the increasing consumption of high energy foods which a low nutritional value is associated with much less ingestion of dietary fiber. This article points out that the population may have additional digestive cancer risks, due to new food consumption patterns which have reduced the availability of dietary fiber.

Key words: diet, dietary fibers, gastro-intestinal cancer, colon cancer.

INTRODUCCION

Las investigaciones epidemiológicas llevadas a cabo en diversos países, sugieren que la mayoría de los padecimientos crónicos y/o degenerativos pueden ser evitados o disminuidos por medio de modificaciones en los estilos de vida.(1,2,3) Uno de los ejemplos más relevantes lo constituye la modificación de los hábitos dietéticos que se observa en poblaciones que migran(4). Es ampliamente reconocido, que las dietas

-
- 1 Investigadora Asociada, Dirección de Investigaciones en Salud de la Mujer y el Niño (DISMN), CISP, INSP.
 - 2 Investigadora Asociada, Dirección de Investigación en Desarrollo y Salud (DIDS), CISP, INSP.
 - 3 Investigadora Titular DISMN, CISP, INSP.
 - 4 Directora DIDS, CISP, INSP.

humanas varían grandemente en el contenido alimenticio debido, entre otras muchas causas, a la disponibilidad de alimentos y a los hábitos dietéticos de cada región. En consecuencia, también difieren las fuentes de proteínas, grasas, carbohidratos, fibras, vitaminas y minerales de acuerdo a cada tipo de dieta en particular. Algunos de los nutrimentos parecen ejercer influencias individuales en el desarrollo o bien en la protección contra las enfermedades crónicas y/o degenerativas al participar en interacciones sinérgicas o antagónicas (5,6,7).

En la época actual y en tan sólo 150 años, los patrones dietéticos que se derivaron de la revolución industrial han propiciado la modificación de la disponibilidad del tipo de alimentos en las diferentes dietas de los grupos humanos y a su vez, se ha alterado el aporte y la distribución de los nutrimentos (9). En la medida en que los países se incorporan al denominado «desarrollo moderno» se encuentran por primera vez ante la posibilidad de elegir sus alimentos basados no en la disponibilidad intrafamiliar y de producción regional o local, sino en intereses culturales, comerciales y económicos (10).

Las dietas en las sociedades modernas aportan el doble de grasas, con una proporción de ácidos grasos saturados mucho mayor que los insaturados. Asimismo, los carbohidratos complejos (grupo en el que se encuentra la fibra dietética) representan únicamente el 20% del valor calórico total de la dieta. A la vez, el aporte de azúcar y de sal se ha incrementado sustancialmente. Por otra parte, la fibra dietética cuyo consumo en el pasado distante se encontraba entre 10 y 100 gramos diarios, hoy en día, en una dieta habitual de países en vías de desarrollo, suele aportar no más de 15 gramos (2).

En las últimas décadas, nos enfrentamos a las consecuencias que éste cambio dramático de hábitos alimentarios está provocando en detrimento de la salud de las poblaciones tanto desarrolladas, como aquellas en vías de desarrollo. Se acentúa dicho detrimento cada vez más, con las crecientes tasas de morbilidad y mortalidad de padecimientos definitivamente asociados a las características de la dieta. Entre estos padecimientos sobresalen la arterioesclerosis, las enfermedades cardiovasculares, la hipertensión y alteraciones relacionadas, la obesidad, la osteoporosis, la diabetes y las neoplasias malignas de diferente índole (10-12).

De acuerdo a algunos estudios epidemiológicos, la incidencia de cáncer en Estados Unidos en 1980 podía atribuirse a factores ambientales en el 80 al 90% de los casos (10). En este sentido, entre los factores ambientales, la dieta y los elementos nutricios se encontraron relacionados en un 60% en los cánceres para mujeres y en un 40% para hombres (14-17).

Por estas razones, se destaca la necesidad de revisar aspectos relacionados con algunas características de la dieta moderna y la salud. En este trabajo se contempla en particular la literatura científica sobre la falta de ingesta de fibra y su relación con las neoplasias del tubo digestivo. También se revisa la situación que ha prevalecido durante las últimas décadas, en la reducción de fibra en la dieta de la población

mexicana y las implicaciones que ésta puede tener en la alta incidencia de enfermedades crónicas proliferativas del estómago e intestinos.

Fibras y cáncer de colon y recto

La influencia de la fibra dietética como un factor protector contra las neoplasias del tubo digestivo, es actualmente un tema sobresaliente en la discusión respecto a los cambios de la alimentación actuales (13) y fue ignorada durante mucho tiempo, quizá porque contribuye poco al valor nutritivo de la dieta (14). Sin embargo, ahora se sabe que la fibra consiste en un grupo complejo de sustancias esenciales en la alimentación y necesarias para la salud del ser humano (18-19).

Datos obtenidos de varios estudios demuestran que los factores ambientales y conductuales tales como el sedentarismo, el hábito tabáquico y el consumo de alcohol entre otros, y en particular una dieta rica en grasa y proteínas pero baja en fibra se encuentran involucrados en la etiología del cáncer de colon (20). A la fecha, se han sugerido numerosos mecanismos por medio de los cuales la fibra dietética ejerce un efecto protector contra el cáncer de colon (21,22). Sin embargo, definir el efecto de la fibra dietética en la prevención del cáncer de colon es difícil, debido a la multicausalidad de estos padecimientos y en particular por la compleja naturaleza de éste componente dietético en cuanto a sus diferencias de estructura química, morfológica y en su efecto fisiológico para mantener la función gastro-intestinal normal (17).

Se ha postulado que el cáncer de colon se relaciona en gran parte, con el contenido fecal presente sobre la mucosa del intestino grueso, que a su vez depende principalmente de los nutrimentos contenidos en los alimentos como la fibra, que llegan a esta parte del intestino con cambios mínimos en su estructura (23). Eastwood (24) ha sugerido que la fibra se comporta como una esponja con propiedades fisicoquímicas específicas, dependiendo de la estructura y composición de sus elementos. Estas propiedades son pasivas y activas. Las primeras se refieren a la formación de gel y capacidad para retener el agua. Las segundas implican el intercambio de cationes, absorción de ácidos biliares y actividad antioxidante (23).

Debido también a sus propiedades fisicoquímicas, la fibra puede ser degradada por las bacterias en el colon (24). En general, las fibras vegetales solubles tienen poco o ningún efecto en el peso de las heces y su dilución, pero la fermentación de éstos produce ácidos grasos de cadena corta (como butirato), que aparentemente promueven la diferenciación celular y por lo tanto, disminuyen el riesgo de desarrollar un proceso neoplásico (25-28). Por otra parte, y contrario a una publicidad amplia que se ha dado, el trigo integral proporciona menos butirato que las fibras vegetales (29).

En resumen, se ha observado que la acción protectora de la fibra dietética en el cáncer de colon, puede depender de varios factores entre los que destacan: a) el tipo de fibra

(soluble o insoluble) y su diferente función dentro del tracto digestivo; b) la composición química de la fibra y su capacidad de unión con carcinógenos; c) la reducción del tiempo de tránsito intestinal lo que permite una menor exposición y formación de sustancias carcinógenas que se puedan formar a partir de los residuos de alimentos; d) la interacción con otros componentes de los alimentos como son los triglicéridos, el calcio, los anticarcinógenos; y e) la reducción del pH fecal que favorece un incremento en la formación de ácidos grasos de cadena corta, y una disminución de la producción de ácidos biliares secundarios, que a su vez estimula una mayor fermentación (30-34).

Las altas correlaciones entre la incidencia de los cánceres de colon y recto y los hábitos dietéticos, son evidentes en los estudios de migración de poblaciones. Se ha observado que a través del tiempo, los patrones de incidencia de cáncer de los emigrantes, cambian de los de su país de origen hacia los de la población en la nación que los recibe (2,4,10). Estudios realizados en Japón y en Finlandia, particularmente en las áreas rurales, han mostrado tasas de cáncer de colon bajas, comparadas con las de la mayoría de los países occidentales (35,36). La explicación para las incidencias bajas de este tipo de neoplasias en Japón, quizá estribe en su mínimo consumo de grasas, y en el origen de ésta. La mayor parte de las grasas de la dieta en el Japón, se derivan de la grasa del pescado que ofrece un alto contenido de ácidos grasos del tipo omega 3, los cuales a su vez, han sido reconocidos como protectores contra diversos tipos de neoplasias en varios modelos experimentales en animales (37).

Por lo que concierne a los finlandeses, se sabe que esta población tradicionalmente ha sido consumidora de una elevada cantidad de cereales que son una fuente excelente de fibras dietéticas (estimando 32 g/día en promedio). Se sabe que el volumen de las heces fecales aumenta a mayor consumo de fibra y provoca que la concentración de los ácidos biliares secundarios encontrados en ellas, resulte mucho más reducida. Esto contrasta en forma opuesta con los niveles altos de ácidos biliares encontrados en la población de Nueva York en donde el consumo de fibra es menor y el cáncer de colon es una patología frecuente (30).

Respecto al cáncer del recto se ha propuesto, de acuerdo al resultado de algunas investigaciones, que existe un riesgo mayor para esta neoplasia en los sujetos con una ingesta calórica elevada (38,39). Por otra parte, también se han encontrado asociaciones protectoras contra este tipo de cáncer con la ingestión de carotenoides, de vitamina C y de fibra dietética proveniente de los vegetales. Sin embargo, sobre todos los factores dietéticos, destaca la asociación con alimentos ricos en fibra, que se presenta de manera constante en los resultados de la mayoría de las investigaciones (40). Cabe mencionar que estos alimentos son también fuentes de otros elementos con propiedades potenciales de inhibir este tipo de padecimiento (2,10,41). Al respecto, en un estudio llevado a cabo por Freudenheim y cols.(39) sobre factores protectores

para el cáncer del recto, encontraron que la asociación con la ingestión de fibras vegetales, vitamina C y carotenos persistió aún después de controlar el aporte de energía total y grasas.

Fibra y cáncer de estómago

Al evaluar las características del cáncer gástrico, hasta el momento no ha sido posible identificar con certeza un factor, agente o mecanismo responsable de esta enfermedad, pero existe evidencia respecto a que algunos aspectos de la dieta se encuentran fuertemente involucrados en su etiología (42-45).

En los últimos años se ha observado una tendencia a la disminución gradual en la incidencia de cáncer gástrico para aquellos países que hace 20 años presentaban las tasas más elevadas, como es el caso de los Estados Unidos, Japón y los japoneses emigrantes a Hawai (4,6). Aparentemente, este descenso está asociado, entre otros factores, a algunos cambios en los patrones de consumo alimentario, ya que se ha disminuido el consumo de grasas ligeramente, de productos ahumados o curados, así como en salmuera y se ha procurado estimular la ingestión de fibra dietética (1).

El factor dietético protector contra el cáncer gástrico, se relaciona con el consumo de frutas y verduras frescas, en general y en particular con el ácido ascórbico y los beta-carotenos (6,47). Estas asociaciones pueden también explicar la controversia respecto al papel de la fibra dietética como protector del cáncer de estómago (48). En un estudio de casos y controles llevado a cabo en Israel, no se establecieron categorías para el consumo de fibra, pero se demostró que los controles consumían más alimentos «fibrosos» con mucho mayor frecuencia que los casos (49). En un estudio realizado en Canadá, Risch y cols (50) calcularon un índice de consumo de fibra, mediante el cual pudo demostrarse un efecto protector por parte de los alimentos que son fuentes de fibra dietética. Por su parte, los cereales también aportan una buena cantidad de fibra dietética. Sin embargo, aparentemente no protegen tanto como los vegetales y las frutas contra las neoplasias gástricas (51).

Fibra en la dieta mexicana y sus implicaciones para las neoplasias gastro-intestinales

Las enfermedades infecciosas que por muchos años fueron mayormente responsables de altas tasas de morbilidad y mortalidad en México, ya han dejado de ser los principales padecimientos en los registros actuales. Hoy en día se han incrementado en la población mexicana adulta, la prevalencia de las enfermedades crónicas tales como las cardiopatías, las neoplasias, los accidentes cerebrovasculares, la diabetes y la cirrosis hepática entre otras (11,12,52).

En 1990, los tumores malignos constituyeron la segunda causa de mortalidad general en México. Para la población comprendida entre 45 y 64 años de edad, algunos de estos tumores malignos como el de estómago, se han encontrado en

el primer lugar como causa de muerte y para el grupo de 65 años y más, este tipo de tumores se presentan como la segunda causa de muerte desde hace algunos años (52,53).

El Cuarto Informe Nacional elaborado por el Grupo de Estudio sobre el Cáncer en la República Mexicana, reveló que de los diferentes tipos de tumores del tubo digestivo, el carcinoma gástrico se presentaba más frecuentemente (con un 48.3% del total de tumores de este aparato), seguido por el de colon y recto (54). Basado en datos de once hospitales de la Ciudad de México y cuatro del interior del país, el mismo documento indicó que en relación de todas las muertes por neoplasias del tubo digestivo, el cáncer de colon había aumentado de 24% a un 32% en el período de 1978 a 1981.

No se sabe hasta que punto la migración urbana y las modificaciones concomitantes a la dieta de la población, actúen como cofactores en el incremento de las neoplasias gastrointestinales. Sin embargo, conforme el país ha avanzado en su desarrollo, los patrones de alimentación también se han modificado. Hoy en día, un importante sector de la población ha sobrepasado el umbral del aporte necesario para cubrir las demandas fisiológicas. El creciente consumo de alimentos concentrados en energía, ha sido acompañado con los de bajo valor nutricional que van desplazando los alimentos tradicionales (2,55).

Existen razones para pensar que el incremento en la incidencia de diversos tipos de neoplasias del tubo digestivo en México, se deba en gran parte a las modificaciones dietéticas en algunos sectores de la población. Entre estos cambios alimentarios se encuentran los asociados a la urbanización y la industrialización del país (56). A pesar de la gran importancia que revisten los cambios en la composición de la dieta y sus efectos metabólicos en la población mexicana, poco se conoce sobre este tema.

Al respecto, sólo es posible vislumbrar un panorama muy general referente al consumo de fibra dietética con los resultados de dos estudios recientes llevados a cabo en México. El primero consiste en una evaluación de los cambios en la alimentación elaborada por el Instituto Nacional de la Nutrición «Salvador Zubirán» (INNSZ) (57). Con base en los datos obtenidos en las tres encuestas nacionales en el medio rural (1974, 1979 y 1989), se concluyó que existe un descenso en el consumo de alimentos de los denominados «básicos» entre los que destacan las tortillas y los frijoles. En el año de 1974 el 97% de las familias encuestadas, reportaron consumir tortillas. En 1979 bajó al 96% y para 1989 sólo el 72% de las familias en área rural informaron consumir este alimento. Por lo que respecta a los frijoles se aprecia también una disminución, siendo estos consumidos por el 88% de las familias en el año de 1974, y sólo por el 83% y el 72% de las familias para los años de 1978 y 1989, respectivamente. Asimismo, el análisis de las tres encuestas rurales también indicó una disminución en el consumo general de los alimentos de origen animal, pero paralelamente se apreció un aumento en el consumo del huevo. Finalmente, se observó que el azúcar refinada se

encuentra entre los diez alimentos más frecuentemente consumidos en las 19 «Zonas nutricionales en México» y en el 70% de estas zonas, se ubica entre los cuatro primeros

Como se ha aludido, el Instituto Nacional de la Nutrición «Salvador Zubirán» (INNSZ) ha venido realizando encuestas dietéticas en varias zonas rurales del país desde la década de los setentas. Al inicio de estos estudios, se observó la existencia de una población con una alta disponibilidad de fibra dietética en su dieta a través de un patrón de consumo constituido principalmente de maíz y leguminosas, complementadas por raíces, frutas y verduras, con sólo un pequeño aporte de alimentos de origen animal (55). Desafortunadamente este tipo de alimentación fue calificado por mucho tiempo como parte de la cultura del «subdesarrollo». Actualmente, por su adecuado contenido de fibras dietéticas valiosas para la nutrición humana y su balance en el aporte de nutrimentos, la dieta tradicional se considera «adecuada» nutriólogicamente hablando, mientras que la población general mantiene una idea de desprestigio respecto a dicha dieta (57,58).

La Encuesta Nacional de Nutrición efectuada en el año de 1988 por la Secretaría de Salud, es otro estudio que aporta evidencia sobre la ingestión de fibra dietética (59). En ésta encuesta se dividió la República Mexicana en cuatro zonas geográficas. Comprende información sobre la alimentación de niños en edad preescolar y sobre mujeres entre 12 y 49 años. La información correspondiente al consumo de fibra dietética, aportada por las mujeres, mostró consumos muy por debajo de los niveles recomendables de fibra en casi toda la República.

El decremento en el consumo de cereales y leguminosas paralelo a la sustitución de estos alimentos básicos por alimentos refinados, ha promovido una pérdida en el consumo de fibra dietética. Además, en algunas regiones del país el consumo de frutas y verduras, que son una excelente fuente de fibra, suele ser deficiente. Esto ocurre principalmente en áreas urbanas, en donde como ya se mencionó, la elección de los alimentos se basa en patrones socioculturales y económico, más que por la disponibilidad de estos alimentos.

Hasta el momento ha sido muy difícil estimar la relación entre el consumo de fibra de la dieta urbana y/o rural mexicana y las tasas elevadas de morbilidad y mortalidad por cánceres del tubo digestivo. Esto se debe a tres motivos principalmente. Primero, hasta fechas recientes se había carecido de una metodología validada para la estimación del consumo de alimentos en grandes poblaciones (60). Segundo, existen pocos estudios epidemiológicos que permitan identificar las asociaciones entre el consumo de macronutrimentos y cánceres gastrointestinales. El tercer obstáculo ha sido el desconocimiento respecto al contenido de fibra dietética, que existe en muchos de los alimentos que se consumen en la República Mexicana.

Hoy en día se llevan a cabo diversas investigaciones epidemiológicas en el campo de la nutrición que están enfocadas a esta problemática y que utilizan instrumentos que permiten estimar las características de la dieta actual de la

población mexicana. Estas investigaciones complementadas con estudios metabólicos y de laboratorio favorecerán identificar más eficientemente el aporte de la fibra dietética en la dieta mexicana y para correlacionar el papel de ésta dentro de la incidencia de algunos tumores específicos del aparato digestivo (58,60,61).

REFERENCIAS

- Boeing H. Epidemiological research in stomach cancer: progress over the last ten years. *Cancer Res Clin Oncol* 118:133-143, 1993.
- WHO, diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. A report of the WHO study group on diet, nutrition and prevention of noncommunicable diseases. *Nutr Rev.* 10:291-301; 1991.
- Tollefson L. The use of epidemiology, scientific data and regulatory authority, to determine risk factors in cancer of some organs of the digestive system. *Regul Toxicol Pharmacol*; 5:255-275. 1985.
- Correa P., Haenszel W., Cuello C., Tannenbaum S. Epidemiology of gastric carcinoma: review and future prospects. *Monogr Natl Cancer Inst*; 62:129-134, 1982.
- Martin D, Mayes P., Rodwell V. Harper's review of biochemistry. California. Lange Medical Publications 2nd. ed. 1985.
- Olson JA. Carotenoids, vitamin A and cancer. *J Nutr* 116:1127-30. 1986.
- Ziegler RG, Mason TJ, Sternhagen A, Hoover R, Schoenberg JB, Gridley G., Virgo PW, Fraumeni JF. Carotenoid intake, vegetables, and the risk of lung cancer among white men in New Jersey. *Am J Epidemiol.* 123:1080-1093, 1986.
- Eaton SB, Konner M. Paleolithic nutrition: a consideration of its nature and current implications. *N Engl J Med* 312:283-289. 1985.
- Tannahil R. Food in history. New York.: Stein and Day, 1973.
- National Research Council. Diet and health. Implications for reducing chronic disease risk. Washington, DC: Nat Academy Press, 1989.
- Bustamante P., Lezana MA, Fernández R., Villa AR, Borja VH. El análisis de la mortalidad por causa múltiple: un nuevo enfoque. *Salud Pública de Mex.*; 32(4):309-318. 1990.
- Dirección General de Epidemiología (México). Primera Encuesta Nacional de Salud. Resultados nacionales. Sistema Nacional de Encuestas, 1988.
- Alabaster O. The power of prevention. Washington, D.C. Oxford University Press, 1988.
- Freudenheim J, Graham S. Toward a dietary prevention of cancer. *Epidemiol Rev.* 11:229-235, 1989.
- Shankar S, Lanza E. Dietary fiber and cancer prevention. *Hematology/Oncology Clin of North Am*; 5(1):25-42. 1991.
- Berrno F., Muti P. Mediterranean diet and cancer. *Eur J Clin Nutr*; 43 Suppl 2:49-55. 1989.
- Burkitt DP, Walker ARP, Painter NS. Dietary fiber and disease. *JAMA*; 229(8):1068-74, 1974.
- Vahouny G, Kritchevsky D, eds. Dietary fiber, basic and clinical aspects. New York: Plenum Press, 1986.
- Life Sciences Research Office. Bethesda MD. Physiological effects and health consequences of dietary fiber. Federation of American Societies for Experimental Biology, 1987.
- Higginson J. Etiological factors in gastrointestinal cancer in man. *J Natl Cancer Inst* 37:527-545. 1966.
- West DW, Slaterry ML, Robinson LM, Schuman KL, Ford MH, Mahoney AW et al. Dietary intake and colon cancer: sex and anatomic site specific associations. *Am J Epidemiol*; 130(5):883-804. 1989.
- Bjelke E. Epidemiological studies of cancer of the stomach, colon and rectum, with special emphasis on the role of diet. *Scand Gastroenterol*; 42-53. 1974.
- Willett WC, Stampfer MJ, Colditz GA, Rosner BA, Speizer FE. Relation of meat fat, and fiber intake to the risk of colon cancer in a prospective study among women. *N Engl J Med*; 323(24):1664-72. 1990.
- Eastwood KM. Effect of soluble fibers on plasma lipids, glucose tolerance and mineral balance. New developments in diet fiber. New York: Plenum Press, 1990.
- Eastwood MA, Kay RM. A hypothesis for the action of dietary fibers along the gastrointestinal tract. *Am J Clin Nutr*; 32:364-367. 1979.
- Rosado J. Fibra dietética: definición, propiedades fisicoquímicas y fisiológicas y sus implicaciones en la salud. *Prog INN, Serie Educación, Comunidad y Salud Pública. Número 5, México, 1989.*
- Anderson JW, Chen WL. Plant fiber., Carbohydrate and lipid metabolism. *Am J Clin Nutr*; 32:346-67, 1979.
- Stasse-Woltius M, Albers HFF, Joke Van Jeveren, DeJong JW, Haut Vast JG, et al. Influence of dietary fiber from vegetables and fruits bran or citrus pectin on serum lipids, fecal lipids, and colonic function. *Am J Clin Nutr*; 33:1745-56, 1980.
- Hakama M, Saxen E. Cereal consumption and gastric cancer. *Int J Cancer*; 2:265-268. 1967.
- Burkitt D. Don't forget fiber in your diet. (Martin D, Howe GR, Jain M, Miller A eds). *Pancreatic cancer in a population-based case- disease study.* London, England. 1974.
- Keisay J. A review of research on effects of fiber intake on man. *Am J Clin Nutr*; 31:142-159. 1978 Jan.
- Graham S, Schotz W. and Martino P. Alimentary factors in the epidemiology of gastric cancer. *Cancer.* 30(4):927-938. 1972.
- Alabaster O. La dieta y la prevención del cáncer. ¿Puede la fibra reducir el riesgo de una muerte prematura? *Memorias del 2do. simposio sobre Fibra Dietética. Mexico, 61-65. 1989 Sep 11.*
- Cummings JH. The effect of dietary fiber on fecal weight and composition in: *CRC handbook of dietary fiber in human nutrition.* Boca Raton FL: 1986, CRC Press 1986, 211-280.
- Wyden E., Wisburger J, Nag S. Nutrition: the need to define «optimal» intake as a basis for public health decisions. *Am J Public Health* 82(3):346-350ç 1992.
- Wynder E., Fujita Y., Harris R., Miller S. Comparative epidemiology of cancer between the United States and Japan. *Cancer.* 67:746-763. 1991.
- Kirkcousk J. Cave W. Dietary effects of menhaden oil on the growth and microsome lipid composition of rat mammary tumors. *J Nat Can Ins* 74:1145-1150. 1985.
- Lyon JL, Mahoney AW, West DW, Gardner JW, Smith KR, Sorenson AW, Stanish W. Energy intake: its relationship to colon cancer risk. *J Natl Cancer Inst.* 78:853-861. 1987.
- Freudenheim JL, Graham S., Marshall JR., Hayghey BP, Wilkinson G. A case control study of diet and rectal cancer in western New York. *Am J Epidemiol*; 131(4):612-24. 1990.

40. López EC, Ménde MH, Derivi S. Protective effect of dietary fiber in colonic and rectal neoplasma. *Rev Bras Colo-proctol.* 4(2):102-107. 1984.
41. Willet WC. Epidemiologic studies of diet and cancer. *Med Onc Tumor Pharmacother.* 7(2-3):93-97. 1990.
42. Chen VW, Abu-Elyazeed RR, Zavala DE, Ktsanes, VK, Haenszel W, Cuello C, Montes G, Correa P. Risk factors of gastric precancerous lesions in a high-risk Colombian population. I. *Salt. Nutr Cancer.* 13:59-65. 1990.
43. González CA, San JM., Marcos G, Pita S, Brullet E, Saigi E, Badía A, Riboli E. Dietary factor and stomach cancer in Spain: a multicentre case-control study. *Int J Cancer;* 49:513-519. 1991.
44. Bjelke E. Epidemiologic studies of cancer of the stomach, colon and rectum with special emphasis on the role of diet. *Scand J Gastroenterol.* 9:42-53. 1974.
45. Haenszel W, Correa P, Cuello C, Guzmán N, Burbano LC, Lores H, Munoz J. Gastric cancer in Colombia II. Case-control epidemiologic study of precursor lesions. *J Natl Cancer Inst.* 57:1021-1026. 1976.
46. Correa P, Sasano N, Stemmermann GN, Haenszel W. Pathology of gastric carcinoma in Japanese populations: coparisons between Miyafi Prefecture, Japan and Hawaii. *J Nat Cancer Inst.* 51:1449-1459. 1973.
47. Stahelin HB, Gey KF, Eichhoizer M, Ludin E. β -Carotene and cancer prevention: the Basel study *Am J Clin Nutr.* 53:265S-269S. 1991.
48. Wiggins CL, Becker TM, Key CR, Samet JM. Stomach cancer among New Mexico's American Indians, Hispanic whites and non-Hispanic whites. *Cancer Res;* 49:1595-1599. 1989.
49. Mondan B, Lubin F, Barell V, Greenberg RA, Modan M, Graham S. The role of starches in the etiology of gastric cancer. *Cancer.* 34:2087-2092. 1974.
50. Munoz N, Correa P, Cuello C, Duque E. Histologic types of a gastric carcinoma in high and low risk areas. *Int J Cancer.* 3:809-818. 1968.
51. Dirección General de Estadística, Informática y Evluación. Secretaría de Salud (México). Principales causas de defunción por entidad federativa y grupos de edad, 1990.
52. Dirección General de Epidemiología. Registro Nacional de Cáncer. Secretaría de Salud, México. 1987.
53. Villalobos JJ, García MP, Campos A, Maqueo M, Cikilik E. Cuarto informe del Grupo de Estudio sobre Cáncer del Aparato Digestivo. *Gaceta Médica de México.* 118(10):419-26. 1982.
54. Instituto Nacional de la Nutrición «Salvador Zubirán». División de Nutrición de Comunidades. Encuestas Nutricionales en México (Encuestas Familiares). Vol II. Estudios de 1963 a 1974. CONACYT-PRONAL. Publicación L-21. 1976.
55. Comisión Nacional de Alimentación/Instituto Nacional de la Nutrición «Salvador Zubirán». Valor nutritivo de los alimentos de mayor consumo en México. México D.F. 1992.
56. Instituto Nacional de la Nutrición /Comisión Nacional de Alimentación. Encuesta Nacional de Alimentación en el Medio Rural 1989. Publicación L-86, 1990.
57. Bourges H. La fibra al desnudo. Cuadernos de Nutrición. Instituto Nacional de Nutrición (México). 12(5):33-75. 1989.
58. Dirección General de Epidemiología (México). Encuesta Nacional de Nutrición. Sistema Nacional de Encuestas. Secretaría de Salud, México. 1988.
59. Hernández-Avila M., Romieu I., Parra S. Validación de un cuestionario sobre dieta habitual. *Arch Latinoam Nutr; Supl* 42(2):199-200. 1992.
60. Rosado JL. Propiedades fisicoquímicas de la fibra dietética y su efecto gastrointestinal. *Memorias del 2do. Simposio sobre Fibra Dietética; México,* 26-34. 1989 Sep 11.

Recibido: 18-01-1993

Aceptado: 17-02-1994

Características actuales del bocio endémico en tres zonas censoras de Chile

Santiago Muzzo¹, Medardo Burgueño¹, Fresia Carvajal², Regina Moreno³ y Laura Leiva¹

RESUMEN. El objeto del estudio fue evaluar el estado actual del bocio endémico (BE) en Chile. Se estudiaron 3500 escolares de educación básica, de 6 a 16 años de edad en 3 zonas censoras del país: 1000 en Calama (Norte), 1000 en Temuco (Sur) y 1500 en Santiago (Centro). Se determinó el nivel socioeconómico (N.S.E.) por la escala de Graffar; dos examinadores entrenados determinaron por palpación la presencia y tipo de bocio de acuerdo con la clasificación de la O.M.S. En 20% de los escolares se tomó una muestra de la primera orina de la mañana para la determinación de yodo. Se recolectaron muestras de sal en las 3 regiones para medir su concentración de yodo. Encontramos una prevalencia de bocio de 11.4% en escolares de sexo masculino y 12% en el sexo femenino, existiendo diferencias significativas por región y siendo el bocio Ia. el más frecuente. Se observó un aumento de la prevalencia en las edades puberales en los escolares de sexo femenino. Se encontró una mayor prevalencia en los niveles medio-bajo y bajo (12.4% y 14.4% respectivamente). La calidad de la yodación de la sal fue variable en las 3 zonas, teniendo 1/3 de las muestras una concentración > de 100 partes por millón (ppm), 1/3 entre 60 y 100 ppm y 1/3 < de 60 ppm. Se demuestra que de acuerdo al criterio de la O.M.S., aún persiste BE de severidad muy moderada en Chile.

SUMMARY. Current characteristics of endemic goiter in three censor areas of Chile. The goal of the present study was to evaluate the current status of endemic goiter in Chile. 3500 students of basic education from public schools in three censor areas of the country were studied: 1000 in Calam (North), 1000 in Temuco (South) and 1500 in Santiago (Center). Socio-economic level was evaluated according to the Graffar scale. Two trained physicians determined body weight, height and size of the goiter through palpation of the thyroid gland (according to W.H.O. classification). Iodine in urine was determined in 20% of the students. Iodine insalt was determined in samples obtained in the three areas. A goiter prevalence of goiter of 11.4% in males and 12% in females was found, with a higher prevalence in females during puberty. A higher prevalence in the medium-low and low socio-economical levels was observed (12.4% and 14.4% respectively). The level of salt iodination was variable in the three areas (1/3 with concentration >than 100 parts per million (ppm), 1/3 between 60-100 ppm and 1/3 with <60 ppm of iodine content). According to W.H.O. criteria, Chile has presently a low goiter prevalence, but the salt iodine concentration indicate the importance of a permanent surveillance of iodine nutrition.

INTRODUCCION

Se considera bocio a todo aumento de volumen de la glándula tiroides, constituyendo un problema endémico cuando afecta a más del 10% de la población general o al 5% de la población de escolares de educación básica.

El factor causal más importante en la producción del bocio endémico es el escaso contenido de yodo en los alimentos, los que suelen ser la fuente dietaria más importante de yodo, ya

que suministran casi el 90% de la ingesta total, mientras que el 10% restante proviene del agua. El yodo es un micronutriente esencial para el hombre; indispensable para el desarrollo y funcionalidad del sistema nervioso, desde las primeras semanas de la vida intrauterina. Los efectos del déficit severo de yodo pueden ser graficados como un iceberg, cuya parte más visible es el cretinismo (1-10%), cuyo síntoma principal es el retraso mental severo; luego existen grados menores de daño cerebral (5-30%) y finalmente en la base tendríamos el hipotiroidismo, con una prevalencia mucho más alta (30-50%). Todas estas alteraciones están englobadas dentro del término «enfermedades por deficiencia de yodo». Se describen dos tipos clínicos de cretinismo endémico según la sintomatología dominante: 1) Cretinismo nervioso, en el que predomina la sintomatología neurológica con alteraciones en la audición y lenguaje en grado variable hasta llegar a la sordomudez; alteraciones

1 Unidad de Endocrinología. Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA). Universidad de Chile.

2 Nutricionistas. Hospital de Calama.

3 Universidad de la Frontera. Temuco.

motoras que van desde defectos motores finos hasta diplegia espástica y convulsiones en los casos más severos. 2) Cretinismo hipotiroideo o mixedematoso, que es la forma más frecuente de presentación; se acompaña de retraso del crecimiento, de la maduración ósea y de otras manifestaciones clínicas de hipofunción tiroidea. El déficit moderado también produce trastornos en el desarrollo del Sistema Nervioso Central tanto en animales como en humanos, que se expresan frecuentemente en una disminución del coeficiente intelectual, alteraciones bioquímicas y neurofisiológicas permanentes del sistema nervioso (1-3).

Los requerimientos de yodo varían con la edad y estado fisiológico (embarazo y lactancia.). El National Research Council recomienda una ingesta diaria de 30 ug de yodo/día en niños de 0 a 6 meses de edad, 45 ug de yodo/día entre 6 y 12 meses, 60-100 ug de yodo/día entre 1 y 10 años y 100-150 ug de yodo/día para los mayores de 11 años y adultos. Se considera que existe un déficit moderado de yodo cuando su excreción urinaria está bajo 100 ug/día; el déficit es considerado severo cuando estos valores están bajo 25 ug/día. Sin embargo, la prevalencia del bocio endémico no siempre es proporcional al déficit, lo que sugiere la presencia de otros factores etiológicos involucrados aparte del yodo, como son los bocígenos, factores genéticos y nutricionales (4,5,6).

Varios trabajos de autores nacionales señalan que en nuestro país existe bocio endémico. Donoso en 1953 encontró una prevalencia de 11% en los escolares de Santiago y 19% en los de Coquimbo; en 1958 demostró un 33% en la provincia de Linares y 24% en la provincia de Nuble. En 1982, Muzzo y cols. encontraron en una muestra representativa de escolares de educación básica de la región metropolitana una prevalencia de 18.8% (7). En 1986, siete años después de iniciada la yodación de la sal, al estudiar dos zonas censoras (Santiago y Temuco), estos autores encontraron que la prevalencia había descendido a 7.6% (8).

La yodación de la sal permite erradicar el bocio endémico. Sin embargo, algunos países que lo habían logrado, el bocio endémico ha reaparecido por un relajamiento en el cumplimiento de la yodación de la sal.

Chile legisló sobre la yodación de la sal de consumo humano en 1959. En 1966 salió un decreto que estableció la obligatoriedad de la yodación de la sal de consumo humano a través del agregado de 1 parte de yodato de sodio o potasio por cada 10.000 de sal. Sin embargo esta medida no se implementó hasta 1979 y su vigencia duró sólo hasta 1984, reinstaurándose en 1991.

Nos interesó efectuar una evaluación del estado actual del bocio en Chile y analizar la calidad de la yodación de la sal, para lo cual efectuamos el presente estudio en 3 zonas censoras del país. Se eligieron estas 3 zonas para representar ciudades del Norte, Centro y Sur del país y por estar alejadas de la costa.

MATERIAL Y METODOS

El estudio se efectuó en escolares de educación básica, cuyas edades fluctuaron entre 6 y 16 años. Esta muestra se recolectó durante el segundo semestre de 1991, en establecimientos municipales de 3 zonas censoras que habíamos analizado en ocasiones anteriores, con la finalidad de vigilar la nutrición de yodo en Chile. Se tomaron 1.000 escolares en Calama (Norte), 1000 en Temuco (Sur) y 1500 en Santiago (Centro), tomados en 2 áreas, 750 en la comuna de San Bernardo y 750 en la de Renca. En cada lugar se seleccionó aleatoriamente un colegio municipal. Se tomó un 50% de la muestra de cada sexo e igual número de alumnos por cada nivel, siendo seleccionados al azar.

El nivel socioeconómico (N.S.E.) se determinó por la escala de Graffar modificada por Alvarez y cols., siendo 1 el nivel alto y 6 el nivel miseria (10). El peso y la talla fueron determinados por una balanza de precisión y por un cartabón estandarizado los que fueron medidos siempre por los mismos investigadores.

Dos examinadores entrenados y estandarizados entre ellos y con otro investigador que ya había determinado la prevalencia de bocio en Chile, determinaron por palpación, la presencia y tipo de bocio de acuerdo con la clasificación de la OMS (Clasificación de Pérez modificada). La discrepancia en el grado de bocio determinado por ambos examinadores fue menor al 1%. Se comparó la presencia y grado de bocio por región, sexo y N.S.E.

En un 20% de los niños se determinó la concentración de yodo en una muestra de la primera orina de la mañana de acuerdo a la técnica de Wawschinek y Eber (11), modificada por Pineda y cols. (12). Se calculó la mediana por región, expresando los resultados en ug/dl.

Se determinó el contenido de yodo en 68 muestras de sal obtenidas en los colegios, en el comercio y en casas particulares. El yodo de la sal, se determinó por la técnica de Pineda, Dary y Morales (13). Los resultados se analizaron en tres cortes: aquellas sales con una concentración mayor de 100 ppm, las con 60-100 ppm y aquellas con menos de 60 ppm.

El análisis estadístico de los resultados se efectuó por la prueba de chi cuadrado.

RESULTADOS

El promedio de edad de los escolares de sexo masculino fue de 10.5 ± 2.4 en Temuco, 10.4 ± 2.4 en Calama y 10.6 ± 3.4 en Santiago; el de las niñas fue de 10.7 ± 2.4 en Temuco, 10.4 ± 2.4 en Calama y 10.6 ± 2.4 en Santiago.

La Tabla 1 muestra la prevalencia de bocio en escolares de sexo masculino por región, observándose una prevalencia de 12% en Temuco, 8% en Calama y 1.32% en Santiago, con una prevalencia en el total de la muestra de 11.4%. Al analizar el grado de bocio existente (Tabla 2) el encontrado más frecuentemente en las 3 ciudades fue el grado Ia, existiendo en la

muestra total un porcentaje de 84.1% de bocios grado Ia, 13.8% de Ib y 2.1% de II, no encontrándose niños con bocio grado III. Al analizar el grado del bocio por región las diferencias fueron estadísticamente significativas.

TABLA 1
PREVALENCIA DE BOCIO EN ESCOLARES DE SEXO MASCULINO, POR CIUDAD

	TEMUCO		CALAMA		SANTIAGO		TOTAL	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Sin bocio	429	88.0	461	92.0	630	86.8	1520	88.6
Con bocio	59	12.0	40	8.0	96	13.2	195	11.4
TOTAL	488	100.0	501	100.0	726	100.0	1715	100.0
	X2=8.4249		2 g.l.		p<0.025			

TABLA 2
GRADO DE BOCIO EN ESCOLARES DE SEXO MASCULINO, POR CIUDAD

GRADO BOCIO	TEMUCO		CALAMA		SANTIAGO		TOTAL	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Ia	50	85.7	28	70.0	86	89.6	164	84.1
Ib	8	12.6	10	25.0	9	9.4	27	13.8
II	1	1.7	2	5.0	1	1.0	14	2.1
TOTAL	59	100.0	40	100.0	96	100.0	195	100.0
	X2= 6.2753		2 g.l.		p<0.05			

La Tabla 3 muestra la prevalencia de bocio en escolares de sexo femenino por ciudad; observándose una prevalencia de 8.6% en Temuco, 12.6% en Calama y 13.8% en Santiago, diferencias estadísticamente significativas, con una prevalencia general de 12%. Al estudiar el tipo de bocio existente (Tabla 4), se encontró que un 77.5% correspondía al grado Ia, 19.5% al Ib y 3% al II; no se detectaron bocios grado III. No se observaron diferencias significativas al comparar el grado del bocio por región.

TABLA 3
PREVALENCIA DE BOCIO EN ESCOLARES DE SEXO FEMENINO, POR CIUDAD

	TEMUCO		CALAMA		SANTIAGO		TOTAL	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Sin bocio	447	91.4	429	87.4	599	86.2	1475	88.0
Con bocio	42	8.6	62	12.6	96	13.8	200	12.0
TOTAL	489	100.0	491	100.0	695	100.0	1675	100.0
	X2= 7.7618		2 g.l.		p<0.025			

TABLA 4
GRADO DE BOCIO EN ESCOLARES DE SEXO FEMENINO, POR CIUDAD

GRADO BOCIO	TEMUCO		CALAMA		SANTIAGO		TOTAL	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Ia	32	76.2	46	74.2	77	80.2	155	77.5
Ib	9	21.4	12	19.4	18	18.7	39	19.5
II	1	2.4	4	6.4	1	1.1	6	3.0
TOTAL	42	100.0	62	100.0	96	100.0	200	100.0
	X2= 0.2961		2 g.l.		p=N.S.			

Al analizar la prevalencia de bocio en los escolares de sexo masculino por edad (Tabla 5), se encontró 11.3% en menores de 8 años, 12.1% entre 9 y 11 años y 10.4% en mayores de 12 años; no siendo significativas las diferencias. En los escolares de sexo femenino (Tabla 6), se observó una prevalencia de 8.6% en menores de 8 años; 9.9% entre 8 y 9 años y 13.8% en mayores de 10 años, diferencias que fueron significativas (p<0.01).

TABLA 5
PREVALENCIA DE BOCIO EN LA MUESTRA TOTAL DE ESCOLARES DE SEXO MASCULINO, SEGUN EDAD (AÑOS)

	< 8		8 - 9		> 10	
	n	%	n	%	n	%
Sin bocio	470	88.7	575	87.9	456	89.6
Con bocio	60	11.3	79	12.1	53	10.4
TOTAL	530	100.0	654	100.0	509	100.0
	X2= 0.7913		2 g.l.		p= N.S.	

TABLA 6
PREVALENCIA DE BOCIO EN LA MUESTRA TOTAL DE ESCOLARES DE SEXO MASCULINO, SEGUN EDAD (AÑOS)

	< 8		8 - 9		> 10	
	n	%	n	%	n	%
Sin bocio	266	91.4	391	90.1	813	86.2
Con bocio	26	8.6	43	9.9	130	13.8
TOTAL	291	100.0	434	100.0	943	100.0
	X2= 7.8963		2 g.l.		p<0.01	

La Tabla 7 muestra la prevalencia de bocio en escolares de ambos sexos de las tres zonas censoras, observándose un aumento significativo de la prevalencia de bocio mientras menor era el nivel socio-económico.

TABLA 7
PREVALENCIA DE BOCIO EN LA MUESTRA TOTAL DE ESCOLARES DE AMOS SEXOS, SEGUN NIVEL SOCIOECONOMICO

N.S.E. (Graffar)	SIN BOCIO		CON BOCIO		TOTAL	
	n	%	n	%	n	%
1+2	178	90.8	18	9.2	196	100.0
3	915	90.5	96	9.5	1011	100.0
4	1176	87.6	166	12.4	1342	100.0
5 + 6	303	86.6	51	14.4	354	100.0
TOTAL	2572	88.6	331	11.4	2903	100.0

X²=8.9993 3 g.l. p<0.025

Al analizar la prevalencia de bocio en escolares de ambos sexos de acuerdo con la calidad nutricional, expresada como porcentaje de la adecuación P/T, no se encontraron diferencias significativas. Lo mismo ocurrió al estudiar la prevalencia de bocio de acuerdo a la adecuación estatural expresada como el porcentaje de adecuación de la talla/edad.

La Tabla 8 muestra la calidad de la yodación de la sal en las 3 ciudades, observándose un 32.4% entre 60-100 ppm y un 35.3% < de 60 ppm. Temuco fue la ciudad donde se encontró el mayor porcentaje de muestras con déficit de yodo (83.4%).

TABLA 8
CONCENTRACION DE YODO DE LA SAL (ppm) DE TRES ZONAS CENSORAS

LOCALIDADES	>100 ppm		60-100 ppm		< 60 ppm		TOTAL	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Santiago	16	33.3	19	39.6	13	27.1	48	100.0
Calama	5	62.5	2	25.0	1	12.5	8	100.0
Temuco	1	8.3	1	8.3	10	83.4	12	100.0
TOTAL	22	32.4	22	32.4	24	35.4	68	100.0

X²= 0.2961 2 g.l. p= N.S.

La Tabla 9 muestra el promedio y D.E. de la excreción urinaria de yodo expresada en µg I/dl en las 3 zonas, el que fue 72.5%±42.9 en Calama, 66.6±33.7 en Santiago y 37.8±42.6 en Temuco, con una mediana de 85.8, 60.1 y 30.2 respectivamente.

TABLA 9
EXCRECION URINARIA DE YODO (µG I/DL) EN ESCOLARES, SEGUN REGION GEOGRAFICA

LOCALIDAD	YODURIA (ug I/dl)		
	(a)	(b)	(c)
Calama	72.5±42.9 (128)	85.8	7.74 - 173.58
Santiago	66.6±37.7 (204)	60.1	3.75 - 212.1
Temuco	37.8±42.6 (171)	30.2	1.8 - 136.2

(a) = X±D.E. (Número de casos)
(b) = Mediana
(c) = Rango

DISCUSION

Este estudio demuestra que de acuerdo al criterio de la O.M.S., aún persiste el bocio endémico, analizado en 3 zonas censoras de Chile, siendo su severidad moderada y sin presentar la zona central y sur del país una notoria diferencia, en comparación a un estudio anterior efectuado en dichas zonas en 1986 (8).

Al analizar la distribución por sexo nuevamente se encontró que existe una mayor prevalencia en el sexo femenino, especialmente en la etapa puberal y en los niveles socio-económicos más bajos. Con respecto al tipo de bocio, el I a sigue siendo el más frecuente, encontrándose sólo un 2.5% de bocios grado II y ningún bocio grado III. Estos resultados indicarían que la yodación de la sal se ha mantenido a pesar que esta medida dejó de ser obligatoria entre los años 1985 y 1991.

Si bien los valores promedios de la yodación de la sal fueron adecuados, mostraron una gran variabilidad en el contenido de yodo en muestras de una misma zona, hecho que ya fue descrito por Michaud y cols (13). Encontramos 1/3 de las muestras con concentraciones >de 100 ppm, 1/3 con concentración entre 60 y 100 ppm y 1/3 con < 60 pp.m. Este hecho se vio reflejado en los niveles de yodurias de las muestras de orina analizadas en los escolares, donde los promedios de excreción estuvieron dentro de rangos normales, sin embargo, al analizar por zona, se encontró que Temuco tuvo las cifras de yodurias más baja (7.1% bajo 10 µgI/dl, coincidiendo con que en esta zona, un 83.4% de las muestras de sal analizadas tenían un contenido de yodo bajo.

Dado la inestabilidad de la obligatoriedad de la yodación de la sal que ha mostrado nuestro país y de las recaídas de bocio endémico en países que habían solucionado el problema, se hace imperativo efectuar una vigilancia continua de la nutrición de yodo, para así solucionar en forma mantenida este problema nutricional colectivo que por experiencia de otros países, es de fácil prevención y de bajo costo.

REFERENCIAS

1. Beckers C., Delange F. Iodine deficiency. En: Endemic goiter and endemic cretinism. Stanbury J, Hetzel B., eds. New York. Medica, 1980, p. 199-217
2. Blume E., Pohl O., Hernández A., Loyola M. y Pino M. Estudio nutricional y neuropsiquiátrico en niños sometidos a déficit crónico de yodo. Rev Med Chile 105:593-596, 1977.
3. Cordero ME., Zvaigraft A., Muzzo S., Brunser O. Histological maturation of astroglial cells in the archocortex of malnourished rats. *Pediatr Res* 16:187-191, 1982.
4. Koutras D. Iodine: Distribution, availability and defects of deficiency on the thyroid. En: Towards the eradication of endemic goiter, cretinism and iodine deficiency. Dunn H., Prettel E., Daza C., Viteri F., eds. PAHO, Washington DC. Sc Pub 502, 1986, p.15-26.
5. Dunn J., Van der Haar F. Detección de la deficiencia de yodo. En: Guía práctica para la corrección de la deficiencia de yodo. Dunn J., Van der Haar F., eds. ICCIDD, OMS, p. 13-22. 1992.
6. Hetzel B. The concept of iodine deficiency disorders. En: Iodine deficiency disorders and congenital hypothyroidism. Medeiros-Neto G., Maciel R., Halpern A., eds. Sao Paulo (Aché), p.1-6. 1989.
7. Muzzo S., Leiva L., Zvaighaft A. Características del bocio endémico en el escolar de la región Metropolitana de Chile. Rev Chil Nutr 13: 143-147, 1985.
8. Muzzo S., Pozo M., Zvaighaft A., Rodewald K., Biolley E., Leiva L. Características actuales del bocio endémico en escolares de dos zonas censuras de Chile. Rev Chil Ped 60:359-362, 1989.
9. Hetzel B. The present challenge: A massive global program. En: The story of iodine deficiency. Hetzel B., ed. Delhi, Oxford University Press, p.162-227. 1989.
10. Alvarez M.L., Muzzo S. e Ivanovic D. Escala para la medición del nivel socio-económico en el área de la salud. Rev Med Chile 113:243-249, 1985.
11. Wawschinek O., Eber O., Petk P. y Guraker A. Bestimmung der hamjodausscheidung mittels einer modifizierten Cer-Arsenitmethode. *Berichte der OGKC.* 8:13-15, 1985.
12. Pineda O., Morales S., Sosa J. Determinación de yodo en orina. Sección de bioquímica Nutricional, Instituto de Nutrición de Centro-América y Panamá (INCAP). Documento Interno. 1989.
13. Pineda O., Dary O., Morales S. Método de campo para la determinación de yodo de yodato en sal. Sección de Bioquímica Nutricional, Instituto de Nutrición de Centro-América y Panamá (INCAP). Documento Interno, 1981.
14. Michaud P., Silva J. Contenido de yodo en una muestra de sal yodada. Rev Med Chile 109:681-682, 1981.

Recibido : 26-04-1993

Aceptado: 07-03-1994

Evolución de la desnutrición infantil en Chile y algunos de sus factores condicionantes: un análisis de series temporales¹

Hugo Amigo², Luis Díaz³, Paulina Pino⁴ y Gloria Vera²

Departamento de Nutrición. Facultad de Medicina, Universidad de Chile

RESUMEN. El objetivo de este estudio fue determinar la evolución de la desnutrición de la población menor de cinco años controlada por el Sistema Nacional de Servicios de Salud, así como de algunos de sus factores condicionantes, relacionados con el poder adquisitivo de la población, y con programas nutricionales, en el período de 1975 a 1990. Para analizar la información se construyeron series de tiempo a las que se aplicó el procedimiento AREG que estima un modelo de regresión corrigiendo la autocorrelación de errores. Los resultados indican que la desnutrición presenta una tendencia al descenso ($p < 0.0001$) con un patrón de estacionalidad, siendo mayor la prevalencia en los meses de verano. La capacidad de compra se muestra estable, particularmente en los grupos de bajos ingresos, también presenta estacionalidad, siendo mayor el poder adquisitivo en los meses de verano. Finalmente, el gasto en programas de nutrición no presenta variaciones significativas. En conclusión, existe una tendencia a la disminución de la desnutrición, que no se relaciona con el comportamiento de las otras series estudiadas, excepto en el período entre 1975 a 1982 en que se observa una relación inversa con los indicadores socioeconómicos, es decir mientras estos últimos presentan una mejoría los niveles de desnutrición disminuyen. Palabras Claves: Desnutrición infantil, Series Temporales, Indicadores Socioeconómicos, Programas Nutricionales.

SUMMARY. Evolution of infant undernutrition and some conditionant factors in Chile: An analysis of time series. The objective of this study was to determine the evolution of the nutritional status of the population under five years of age during the period 1975-1990. Several conditioning factors were also assessed. The information was evaluated through time series analysis by using the AREG procedure. This procedure allows for the estimation of a regression model correcting by the autocorrelation of errors. Results indicates a significant trend to decreased undernutrition rates ($p < 0.0001$). A seasonal effect on undernutrition was observed, being higher the prevalences in summer. Analysis of selected conditioning factors, as well as the familiar buying capacity remained stable during the period. An exception to the lack of association among undernutrition and the conditioning factors evaluated, was seen during the period 1975-1982 when clear inverse relationship was evidenced. In conclusion, the decrease of infant undernutrition in Chile during the period 1975-1990 was not related to the changes observed in certain socioeconomic indices. Key words: Infant undernutrition, socioeconomic indices, time series analysis, Supplementary Programmes Feeding.

INTRODUCCION

El estado nutricional de los menores de cinco años y el nivel de desarrollo de los países presentaron en década pasadas, una relación directa. Consistentemente se verificaba que países

con un bajo Producto Geográfico Bruto (PGB) per capita y altos niveles de pobreza, presentaban los mayores índices de desnutrición infantil (1,2,3).

El nexos entre la pobreza y la desnutrición tenía un justificativo teórico sólido: la insuficiencia de ingresos determinaba una limitada capacidad de compra de alimentos básicos, resultando en deficiencias alimentarias de grupos poblacionales, especialmente los de bajo nivel socioeconómico. Estas mismas poblaciones eran las que presentaban menos acceso a los servicios de salud y de saneamiento básico, lo que conducía a altos índices de morbilidad, alterando el adecuado aprovechamiento biológico de los alimentos (4). Pese a la

1 Financiado por Proyecto DTI Nº 3196/9222

2 Profesor Departamento de Nutrición, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Sede Norte.

3 Economista. Ministerio de Planificación Nacional de Chile.

4 Profesor Departamento de Salud Pública. Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Sede Oriente.

fortaleza conceptual del mecanismo descrito, en la práctica, la relación entre pobreza y desnutrición fue perdiendo fuerza. Especialmente en aquellos países de desarrollo intermedio donde se ha observado un descenso de la desnutrición, manteniéndose una desigual distribución del ingreso con los consecuentes problemas de pobreza y marginación de amplios sectores (5,6).

La explicación para esta aparente contradicción podría encontrarse en el hecho de que los indicadores utilizados para medir desarrollo no sean actualmente los más adecuados. Por otra parte, se postula que el descenso de las tasas de desnutrición no fue resultado de mejorías socioeconómicas, sino producto de la influencia de otros factores específicos, tales como la mejoría en el acceso a servicios (vacunas, saneamiento, etc.), la reducción de las tasas de natalidad y en general, políticas sociales focalizadas a los grupos de mayor riesgo.

Para profundizar en el análisis de estas relaciones se consideró necesario realizar estudios dinámicos que contemplen lo ocurrido con el estado nutricional y algunos de sus factores condicionantes a través del tiempo.

Este trabajo presenta el análisis de las series de tiempo del estado nutricional del menor de 5 años controlado en el Sistema Nacional de Servicios de Salud (SNSS) y el análisis de otras series relacionadas con el poder adquisitivo de la población.

METODOLOGIA

Para analizar la información se construyeron series de tiempo con datos trimestrales a partir del primer trimestre de 1975 hasta el último de 1990, tanto de la variable dependiente como de las independientes, cuyos criterios de elaboración, fuentes de información, tipo de procesamiento y formas de análisis se presentan a continuación.

Criterios de elaboración y fuentes de información

A. Variable dependiente: Estado nutricional del menor de 5 años. Esta serie fue construida con la desnutrición total medida de acuerdo al indicador peso/edad. Desde 1983 el dato fue obtenido directamente mientras que, para los años anteriores, fue recuperado sólo en forma anual, interpolándose los valores faltantes a partir de las informaciones vecinas. El análisis consideró como caso con desnutrición al menor que tenía déficit de peso superior a una desviación standard del patrón antropométrico, utilizado por la red de Servicios de Salud (7). La fuente de datos utilizados son los registros del Ministerio de Salud (8).

B. Variables independientes: Ingreso, capacidad de compra, valor de la Cesta Básica de Alimentos, y Programas de Alimentación Complementaria (PNAC):

1. Evolución del Ingreso Real: Familia Modal, 20% más

pobre e Ingreso Mínimo.

Para efectos del análisis se consideró como **familia modal** atendida por el Sistema Nacional de Servicios de Salud a aquella que corresponde a los tres primeros quintiles (60% más pobre de los hogares). La serie de ingreso de la familia modal fue estimada de las Encuestas de Presupuesto y Gastos Familiares de los años 1978 y 1988 (9,10) y proyectada a partir del Índice General de Remuneraciones (11,12).

También fueron elaboradas series de evolución del ingreso del 20% más pobre de la población (primer quintil) y del Ingreso Mínimo, para el cual se consideró el establecido por ley, utilizándose informaciones del Banco Central de Chile (11,12). Las tres series fueron expresadas en términos reales, corrigiéndose de acuerdo a la variación experimentada por el Índice de Precios al Consumidor (IPC oficial) (12).

2. Evolución del Costo de la Canasta Mínima de Alimentos

La canasta fue determinada considerando las necesidades de alimentos mínimas mensuales de una familia modal, según el consumo de alimentos diarios requeridos por persona para satisfacer sus necesidades nutricionales, siguiendo recomendaciones de Altimir (13). La evaluación del costo de la canasta se obtuvo valorizando los distintos bienes que la componen de acuerdo a las series de precios al consumidor publicadas por el Instituto Nacional de Estadísticas (14).

3. Evolución de Poder de Compra: Familia Modal, 20% más pobre e Ingreso Mínimo.

La evolución del poder de compra de cada una de las series de ingresos, se calculó a partir de la razón entre dicho ingreso y el costo de la canasta mínima de alimentos. Esta metodología permite estimar un índice que muestra la evolución, en la capacidad de adquirir bienes, en los hogares de los diferentes niveles socioeconómicos analizados.

4. Programa de Alimentación Complementaria (PNAC).

La estimación del posible efecto del PNAC se verificó considerando la evolución de la cantidad de alimentos distribuidos por beneficiarios. Esta información fue extraída de la distribución de alimentos y la población beneficiaria atendida en el SNSS, usando los antecedentes del Ministerio de Salud (8,15).

Estrategia de análisis

En el estudio de cada serie se realizó un análisis de regresión múltiple con el fin de discriminar el origen de la variación de la serie. Para ello se creó una variable «tendencia» y tres variables dummy, que permitieron cuantificar la estacionalidad trimestral y su tendencia. Con la finalidad de constatar la autocorrelación de residuos se utilizó el test de Durbin y Watson (16) y para estimar el modelo de regresión se aplicó el procedimiento AREG (17). De esta forma se obtuvo un valor -corregido- de las variables estudiadas. Todos

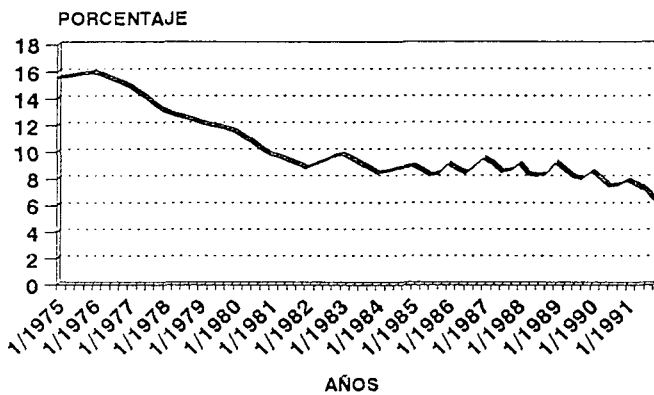
los análisis de series temporales se realizaron utilizando el módulo «Trends» del Paquete Estadístico para Ciencias Sociales, SPSS (18).

RESULTADOS

En el Gráfico 1 se presenta la evolución de la desnutrición total para los menores de cinco años. Se verifica una tendencia negativa de -0.50 ($p < 0.00001$) en el período estudiado, el que se explica por el descenso observado entre 1975 y 1982, ya que a partir del primer trimestre de este último año la tendencia se estabiliza en torno de 8 a 9%. La serie presentó un patrón de estacionalidad, evidenciándose mayor prevalencia de desnutrición en el primer trimestre

GRAFICO 1

Evolución de la desnutrición* en menores de cinco años. Tendencia y Estacionalidad**

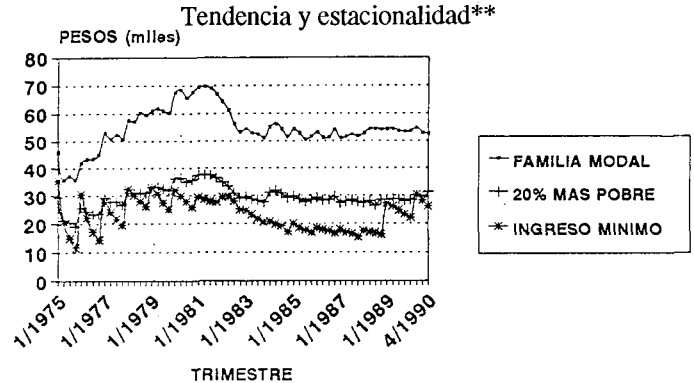


* Utilizando Padrón Antropométrico de Sempé
 ** Tendencia -0.5 ($P < 0.00001$)
 Estacionalidad $P < 0.001$ para el primer trimestre

La evolución de las series de ingresos se observan en el Gráfico 2. La primera serie corresponde al ingreso de la familia modal, que muestra un aumento hasta el primer trimestre de 1981 para posteriormente permanecer sin cambios. El modelo AREG no evidenció significancias estadística para la tendencia, pero sí para la estacionalidad, demostrando que los dos primeros trimestres del año permanentemente presentaron mayores niveles de ingreso, especialmente el primero ($p < 0.0001$).

GRAFICO 2

Evolución del ingreso en familia modal primer quintil e ingreso mínimo* Tendencia y estacionalidad**



* En Pesos de diciembre de 1990
 ** Significancia para tendencia = n.s.
 Estacionalidad $P = 0.05$ primer y segundo trimestre

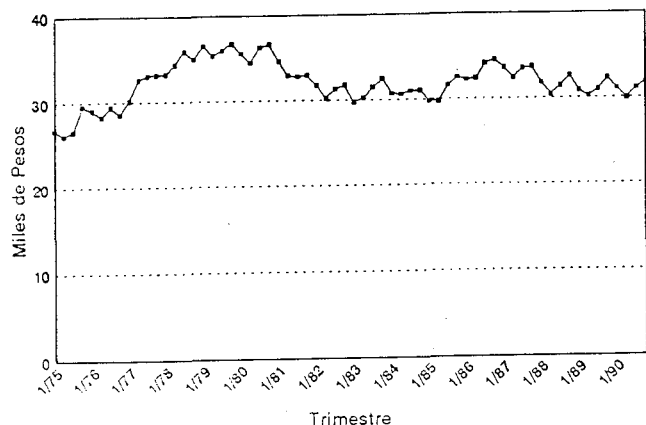
La serie de ingreso para el quintil inferior (20% más pobre de los hogares) mostró mayor estabilidad, observándose solamente un leve aumento entre el último trimestre del año 1976 y 1981. En relación a la estacionalidad se evidenció sólo para el primer trimestre y no con la misma fuerza que la verificada para la familia modal ($p < 0.004$) (Gráfico 2).

Finalmente, siempre en relación al ingreso, fue analizada la evolución del ingreso mínimo. La serie mostró algunas limitaciones para su análisis en cuanto a las exigencias del modelo empleado. Se evidencia mayor estabilidad que las otras series de ingreso y nuevamente, los dos primeros trimestres de cada año muestran un ingreso mayor (Gráfico 2).

La serie sobre el costo de la cesta básica, que se presenta en el Gráfico 3, demostró que no hay tendencia en todo el período estudiado; sin embargo, se observa estacionalidad en el primer y segundo trimestre en los cuales los valores son significativamente más bajos.

GRAFICO 3

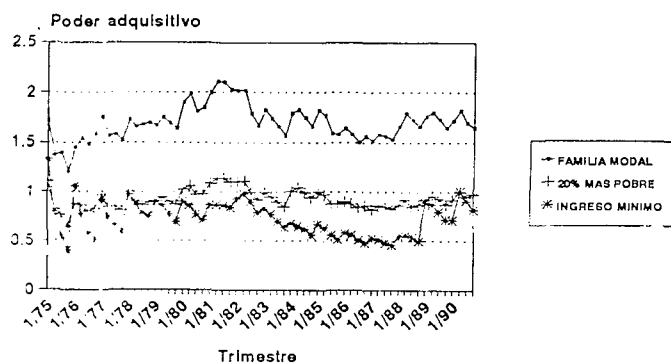
Evolución del costo de la Canasta Básica*. Tendencia y estacionalidad**



* \$ de diciembre de 1990
 ** Tendencia = n.s.
 Estacionalidad $P < 0.000001$ para el 1º y 2º trimestre.

En el Gráfico 4 se observa la evolución que presenta el poder adquisitivo de la familia modal, del 20% más pobre y del ingreso mínimo. La serie de capacidad de compra de la familia modal no indica tendencias significativas y en cuanto a la estacionalidad, se observa que a medida que el año calendario avanza, disminuye el poder de compra. En el quintil más pobre de los hogares, se verifica una estabilidad casi total a lo largo de los 16 años estudiados (tendencia $p=NS$). Tampoco se observa estacionalidad, aunque se aprecia una capacidad de compra algo mayor en el primer trimestre del año. El poder adquisitivo del ingreso mínimo no muestra una tendencia significativa, aún cuando se observa una disminución del mismo a partir del tercer trimestre de 1982 hasta fines de 1988, para luego recuperarse, observándose estacionalidad siendo mayor en el primer trimestre del año.

GRAFICO 4
Evolución del poder adquisitivo* de:
familia modal, primer quintil e ingreso mínimo.
Tendencia y estacionalidad**

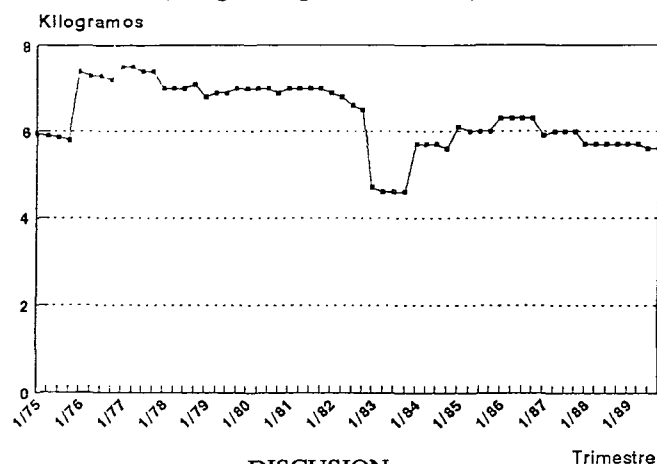


* Ingreso/costo canasta

** Estacionalidad=Trimestre 1, $p<0.05$
Tendencia= n.s.

En relación a los programas de alimentación para los beneficiarios de ese grupo de edad, se constata que la cantidad de alimentos distribuidos por el PNAC presentan una disminución a través del tiempo (Gráfico 5). Análisis preliminares sugieren que esta serie, sería dependiente de la variable desnutrición total, inicialmente definida como dependiente. En otras palabras, cada vez que se observó crecimiento del número de desnutridos aumentaron, en el período siguiente, los alimentos distribuidos.

GRAFICO 5
Evolución del programa nacional de alimentación complementaria (PNAC). Alimentos distribuidos, 1975-1989
(Kilogramos por beneficiario)



DISCUSION

La estrategia de desarrollo seguida en los últimos años se caracteriza por la implantación de un modelo de libre mercado de índole neoliberal. En éste, el rol planificador e interventor del estado es sustituido por uno básicamente supervisor, sin mayores ingerencias en la regulación de los mercados, limitándose a un papel subsidiario de la función social del Estado. De este modo, se prioriza el objetivo de crecimiento económico en desmedro de la justicia social y equidad en la distribución de los ingresos y bienes (19,20).

La repercusión de esta estrategia adoptada, más los ajustes y cambios coyunturales ocurridos en el período estudiado, parecen haber determinado una disminución del poder adquisitivo y del consumo de alimentos básicos de la población de estratos medios y bajos, afectando su estado nutricional. Si bien, el análisis de la desnutrición evidencia una tendencia a la baja, ésta se explica fundamentalmente por el descenso constatado entre 1975 y 1982, ya que posteriormente se observa gran estabilidad. En lo que se refiere a la estacionalidad, el hecho de que se observen cifras mayores en el primer trimestre puede ser explicado por la mayor incidencia de enfermedades gastrointestinales en esos meses.

Por otro lado, todos los indicadores relacionados con capacidad de compra, no demuestran tendencia. De este modo, las series que presentan mayor estabilidad son las referentes a los grupos más carentes. El análisis de estas series evidencian tres momentos; el primero desde 1975 hasta 1982 en que se observa una mejoría, un segundo, en que producto de la recesión se observa una caída del poder adquisitivo, localizada a fines de 1982 a inicio de 1983 y por último, una gran estabilidad.

En los primeros meses del año los indicadores de poder de compra presentan los mayores valores, situación que se explica porque la gran mayoría de los reajustes salariales ocurren en

el inicio del año calendario. No se puede descartar el efecto provocado por la menor inflación que se experimenta en los primeros meses a partir de la mayor oferta de productos agrícolas y de sus subproductos, incidiendo en el costo de la cesta básica de alimentos.

En cuanto a la relación entre las series, se observa que en el primer período existe una evolución inversa: mientras los indicadores socioeconómicos presentan una mejoría, los niveles de desnutrición disminuyen. Este hecho es observable para la familia modal pero no para los grupos más carentes. En la evolución de la situación nutricional también podrían haber contribuido la constante mejoría en la cobertura de saneamiento básico y el descenso de las tasas de natalidad en el período inmediatamente precedente.

En el segundo período esta relación no se mantiene, ya que las fuertes caídas de los indicadores socioeconómicos no repercutieron en un aumento de las tasas de desnutrición. Lo anterior se puede explicar a partir del descenso de las tasas de morbilidad por enfermedades gastrointestinales que a su vez son resultado del aumento de las coberturas de saneamiento básico². También la focalización de programas nutricionales y de otros beneficios sociales tienen que haber contribuido a compensar el efecto de las caídas del poder adquisitivo (21). El tercer período presenta una estabilidad en el estado nutricional. La falta de mejorías puede explicarse por la dificultad de obtener cambios significativos dados los niveles ya alcanzados y la mantención de las tasas de desnutrición se pueden explicar por la permanencia de los programas sociales (22).

La evolución del gasto en programas de nutrición y salud -que podrían postularse como determinantes del descenso de la desnutrición al margen de la estabilidad de los indicadores socioeconómicos- tampoco muestran mayores variaciones. Incluso el gasto en programas de nutrición como proporción del gasto total en salud bajó a 7% siendo que, en 1975 era de 10% (14). Se debe aclarar que a pesar de los esfuerzos realizados, no fue posible obtener una estimación de los gastos del programa de suplementación focalizado, debido a que el Ministerio de Salud Pública no registra este gasto desagregado por tipo de beneficiario.

De los resultados del presente trabajo se puede concluir que en el período estudiado la desnutrición infantil presenta una tendencia al descenso, estacionalidad y sólo se asocia inversamente con los indicadores socioeconómicos en el primer período de la serie estudiada (años 1975-1982) y desde 1983 no se correlaciona con las otras series estudiadas.

Desde el punto de vista metodológico el tipo de análisis realizado (autocorrelación de series temporales) constituye un avance en relación a los tradicionales estudios de tendencias basados en simples visualizaciones gráficas. Sin embargo a futuro deberán realizarse análisis que contemplen otras series y correlaciones entre ellas.

² Actualmente el 97% de los domicilios están conectados a la red pública de agua potable y el 80% están conectados a la red de alcantarillado.

REFERENCIAS

1. Sahn D. & N Scrimshaw. O papel das intervenções nutricionais no processo de desenvolvimento económico in Nutricao e Desenvolvimento Económico Serie de Relatorio de pesquisas Nº 15 Sao Paulo Instituto de Pesquisas Económicas 1983.
2. The World Bank «World Development Report 1991. The Challenge of Development» in Statistical Appendix. World Bank Oxford University Press. New York 1991.
3. Bengoa JM & Rueda Williamson. Planing and Organization of National Food and Nutritional Policy in Preventive Medicine. Monograph Series Nº 62 WHO Geneva 1976 chapter 29, p. 419-444.
4. Mayer J. J. Dwyer, K. Dowd, L. Mayer. Food Nutrition Policy in a Changing World. New York Oxford Press, 1979.
5. UNICEF, «Estado Mundial de la Infancia 1992». Grafos, Barcelona, España, 1992.
6. United Nations Development Program (UNDP), «Human Development Report 1990», Oxford University Press, New York 1990.
7. Sempé M. Surveillance de la croissance de l'enfant. References pratiques. Le Concours Medical Suplemento Nº 43. París octubre 1984.
8. Ministerio de Salud de Chile. Anuario de Atenciones y Recursos 1975 a 1989, Santiago, Chile.
9. Instituto Nacional de Estadísticas (INE), «III Encuesta de Presupuesto y Gasto Familiar 1988», Santiago, Chile 1989.
10. Instituto Nacional de Estadísticas (INE), «III Encuesta de Presupuesto y Gasto Familiar 1988», Santiago, Chile 1989.
11. Banco Central de Chile, «Series de Indicadores Económicos y Sociales 1960-1988», Santiago, Chile 1989.
12. Banco Central de Chile, Boletín Mensual, Abril 1991.
13. Altimir O. «La Dimensión de la Pobreza en América Latina», Estudios de la Cepal Nº 27, Santiago, Chile 1979.
14. Instituto Nacional de Estadísticas (INE), «Series de Precios al Consumidor» Boletines mensuales de enero de 1975 a diciembre de 1990. Santiago, Chile.
15. Ministerio de Salud Pública de Chile, «Indicadores Financieros Sector Salud Pública, 1974-1988», Santiago, Chile. Mayo 1989.
16. Durbin J. G. S. Watson. «Testing for serial correlations in last square regression». I Biometrika 37:409, 1950.
17. Schwartz G. «Estimation dimension of a model», Annual Statistics 6:461-64, 1974.
18. SPSS-PC TRENDS, Manual de Procedimientos para análisis de series de tiempo, SPSS Chicago, 1990.
19. Frenchs-Davis R. «Desarrollo económico y reconstrucción democrática» in Gazmuri J. (Ed.) «Chile en el Umbral de los 90. 15 años que condicionan el Futuro». Editorial Planeta, p. 189-217. Noviembre 1988.
20. Schkolnik M., B. Teitelboim. «Segunda Encuesta de Empleo en el Gran Santiago; Empleo Informal, Desempleo y Pobreza». PET, Documento de Trabajo Nº69, Santiago, Chile. Abril 1990.
21. Vergara P. «Políticas hacia la extrema pobreza en Chile 1973-88». FLACSO, Santiago, Chile. p. 283-337. Febrero 1990.
22. Atalah E. «Análisis de las Políticas, Programas e Intervenciones que influyen en el Estado Nutricional de la Población Chilena». Rev Chil Nutr; 19 (3):169-80. 1993.

Recibido: 14-07-1993

Aceptado: 28-03-1994

Dietary fish oil affects food intake, growth and hematologic values of weanling rats

Zury Domínguez and Virgilio Bosch

Sección de Lipidología y Cátedra de Patología General y Fisopatología. Instituto de Medicina Experimental. Facultad de Medicina - Universidad Central de Venezuela.

SUMMARY. The object of this study was to evaluate the effect of increasing amounts of dietary fish oil on growth and hematological variables of the weanling male Sprague-Dawley rat. Animals were fed diets containing either fish oil (FO) or sesame oil (SO) at 5, 10 or 15% (w/w) for 31 d. Growth retardation and reduced food intake was noted in groups fed FO. Hemoglobin (Hb) concentration diminished when the dietary FO was above 5% (w/w). FO is a poor source of (n-6) fatty acids. We postulate that a partial deficiency in (n-6) polyenic family, is a consequence of the increasing amounts of FO in the diets, that may affect growth and erythropoiesis. In this report we show evidence supporting the hypothesis that diets enriched with fish oil can alter normal growth and induced hematological changes in the male weanling rat. Key words: Fish oil, low (n-6)/(n-3) ratio, growth, erythropoiesis, male Sprague-Dawley rats.

RESUMEN. El aceite de pescado afecta el consumo de alimento, el crecimiento y los valores hematológicos de las ratas recién destetadas. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de dietas con cantidades crecientes de aceite de pescado sobre el crecimiento y las variables hematológicas de ratas machos de la cepa Sprague-Dawley, recién destetadas. Los animales fueron alimentados por un período de 31 días con dietas que contenían aceite de pescado (AP) o aceite de ajonjolí (AA) incorporado al 5, 10 o 15% (p/p). Se observó una reducción tanto del crecimiento como de la ingesta de alimento en los grupos que consumieron AP. La concentración de hemoglobina (Hb) disminuyó en relación al incremento (>5% p/p) del AP dietario. El AP es una fuente pobre en ácidos grasos de la serie (n-6). Postulamos que la deficiencia parcial de la serie poliénica (n-6), que resultó al incrementar las cantidades de AP dietario, puede afectar el crecimiento y la eritropoyesis.

INTRODUCTION

Cardiovascular diseases (CD) are one of the most important factors determining mortality and morbidity in industrialized western countries. The control of CD is leaning heavily on primary prevention through changes in lifestyle, among which dietary habit modifications are most relevant. (1-4). Many reports have shown that populations subsisting on diets rich in marine foods show a low prevalence of cardiovascular disease (5-7). The action of marine foods has been attributed mainly to the protective metabolites (TAX₃, PGI₃, LTB₅) derived from eicosapentaenoic acid (EPA) 20:5(n-3) (8-15).

Additionally, polyunsaturated fatty acids themselves have shown a gene suppression effect on the expression of the hepatic fatty acid synthetase, displaying polyenic (n-3) family the greatest inhibitory potency (16).

Evidence exists showing that marine foods (fish or fish oil) can induce hematologic changes, involving both the erythrocyte

and megacaryocyte lines (17-21). Decreased hemoglobin (Hb) concentration after fish intake, diminished platelet counts and at least one case of severe anemia has been reported (22-24).

We hypothesize a negative modulation of the erythrocyte production, when bone marrow microenvironment and erythropoietic related organs, are enriched in (n-3) PUFA. We reported here the effects of increasing dietary fish oil on growth, food intake and hematologic values of weanling Sprague-Dawley rats.

MATERIALS AND METHODS

Animals.- The experimental protocol was adhere to the Guide for Care and Use of laboratory Animals (25). Forty eight weanling Sprague-Dawley male albino rats. (Instituto de Medicina Experimental, Facultad de Medicina UCV, Caracas, Venezuela) weighing 40-60 g were randomly assigned to six groups (F5, F10, F15, S5, S10, S15) each containing eight

animals which were placed individually in stainless steel cages with wire-mesh floors.

Diets. Six experimental diets were prepared based on AIN recommendations (26) and formulated to contain (w/w) 5, 10 and 15% fish oil (FO) or 5, 10 and 15% sesame oil (SO). The composition of the basal diet is shown in Table 1. (27). Dry components were mixed and stored at -20°C just prior to the addition of dietary oils. After oils addition, diets were stored at -20°C under N₂ and used within 7 d. The peroxide values of the oils, measured by peroxide index (28) were 71 and 42 meq/L for FO and SO respectively. All diets were supplemented with vit E (d-alpha tocopherol plus d1-alpha tocopheryl, Sundown Vitamins) 2 mg/g polyunsaturated fatty acid as an antioxidant.

TABLE 1
COMPOSITION OF THE BASAL DIET (%)

Ingredients	g/100 g diet
¹ Casein	15
² D-L Methionine	0.3
² Fiber (cellulose)	3
² Choline bitartrate	0.2
³ Vitamin mix AIN-76A	1
⁴ Mineral mix AIN-76	3.5
⁵ Corn starch	q.s
⁶ Oil	

¹ Vitamin-Free Test Casein, (Teklad, Madison, WI) 89% crude protein measured by Kjeldahl (26).

² Teklad, Madison, WI.

³ Vitamin mix AIN-76A (Teklad, Madison, WI) in g/kg mixture: Thiamin HCL, 0.6; Riboflavin, 0.6; Pyridoxine HCl, 0.7; Niacin, 3.0; Biotin, 0.02; Calcium Pantothenate, 1.6; Folic acid, 0.2; Vitamin B12 (0.1% trituration in mannitol), 1.0; Dry Vitamin A palmitate (500,000 U/g), 0.8; Dry Vitamin E acetate (500 U/g), 10.0; Vitamin D trituration (400,00 U/g), 0.25; Menadione sodium bisulfite complex, 0.15; Sucrose, fine powder, 981.08.

⁴ Mineral Mix AIN-76 (Teklad, Madison, WI) in g/Kg mixture: Calcium phosphate, dibasic, 500.0; sodium chloride, 74; potassium citrate, 220.0; potassium sulfate, 52.0; magnesium oxide, 24; manganese carbonate, 3.5; ferric citrate, 6.0; zinc carbonate, 1.6; cupric carbonate 0.3; potassium iodate, 0.01; sodium selenite, 0.01; chromium potassium sulfate, 0.55; sucrose finely powdered, 118.03.

⁵ Corn starch, adjusted (w/w) at expense of the dietary oils (Pandock, Caracas, Venezuela).

⁶ Fish Oil (Rp Scherer co., Caracas, Venezuela) and Sesame oil (Industrias El Rey, Caracas, Venezuela) Oils were added 5, 10 or 15% (w/w) into the basal diet at expense of the corn starch.

Fatty Acid composition. The fatty acid composition of the dietary oils is shown in Table 2. Analytical grade solvents (Merck, Darmstadt) were used for the transmethylation (29) of lipids, and the fatty acid methyl ester were separated using gas chromatography (Hewlett Packard Model 5880A) on a polyethylene adipate 4% Chromosorb column. Retention time of highly purified standards were used to identify fatty acid methyl esters.

TABLE 2
FATTY ACID COMPOSITION OF DIETARY OILS

Fatty acid	Fish oil (%)	Sesame oil (%)
< 16:0	35.29	.12
16:0	16.80	10.15
18:0	2.77	3.32
18:1 n-9	9.78	38.27
18:2 n-6	1.97	48.14
18:3	3.05	—
20:4 n-6	1.61	—
20:5 n-3	21.03	—
22:6 n-3	7.8	—

Single determinations

Experimental design.

Six groups of animals were fed for 31 d two different sources of dietary oils, groups F5, F10, F15 consumed 5, 10 and 15% (w/w) fish oil and groups S5, S10, S15 consumed 5, 10 and 15% (w/w) sesame oil respectively. Food and fresh tap water were provided ad libitum. Food was changed daily to prevent rancid diet intake, individual food intakes were registered daily and body weights increments recorded every 3 d. A 12 h dark-light cycle was maintained in the room.

Hematologic parameters.

At the end of the experiment, blood samples were obtained by cutting the tip of previously warmed tails. Hb concentration was determined using the cyanomethaemoglobin method (30), hematocrit (packed red cell volume) was read on a microcapillary reader after centrifugation (International IEC microcapillary centrifuge) for 5 min.

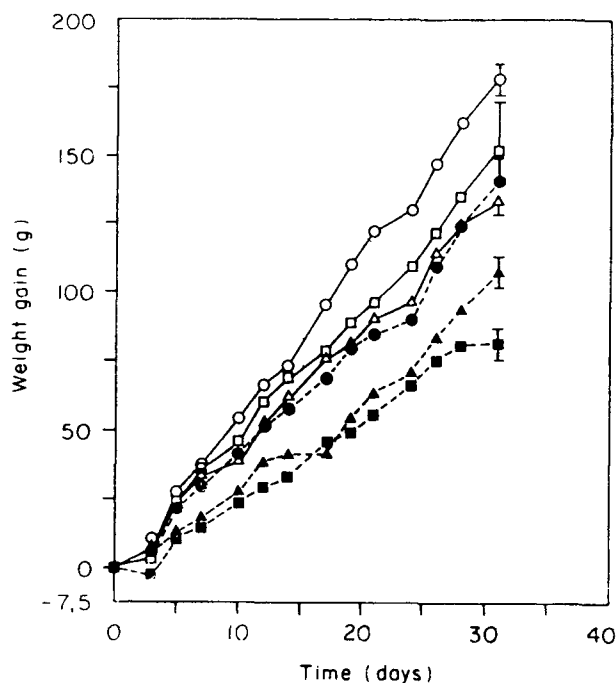
Statistical analysis

We used a completely randomized design with six treatments and eight repetitions. Results are reported as mean +/- standard error (SEM). Mean differences intra-treatments were compared using a one-way ANOVA. To compare means, Duncan's multiple range test was used. Differences inter-treatments were assessed by two-tailed Student's t-test. The level of significance for all test was p<0.05.

RESULTS

Weight gain and food intake. Figure 1 shows the differences in growth curves during the experimental days. Weight gain for groups fed S10 and S15 were below that of the S5 (25 and 14% respectively), which may reflect the effects of the lower food intake among these groups (Table 3) although food efficiency of SO diets show no differences. However, in groups fed FO diiets growth was markedly affected. Negative growth was detected in F15 as early as the first three days of treatment. In general, feeding FO diets resulted in a significant growth impairment that is 20% less for groups F5 and F10 and 46% less for group F15 when compared to the corresponding groups S5, S10 and S15 respectively ($p < 0.05$). Mean differences for growth in FO treatment were statistically significant ($P < 0.05$). The total food intake in groups fed FO diets (Table 3) decreased with increasing FO concentration affecting both, protein intake and food efficiency ($P < 0.05$).

FIGURE 1



Weight gain of 24.d -old rats. Groups FO -fish oil -and SO -sesame oil- at various concentrations:

5% ○ —○— 10% □ —□— 15% △ —△—
 (w/w) in the basal diet during 31 d. Filled symbols for fish oil, open symbols for sesame oil. Values are means, at 0, 10 and 20 days. Mean \pm SEM at 30 d $n=8$ rats/group.

When FO was used above 5% a marked negative effect on growth was observed $p < 0.05$. Feeding SO above 5% have a less marked effect.

TABLE 3
EFFECTS OF INCREASING AMOUNTS OF DIETARY OILS ON FOOD INTAKE AND FOOD EFFICIENCY

	Dietary Oil	Concentration of dietary oils g/100g diet		
		5	10	15
Total	FO	319.5 \pm 17.7 ^a	264.6 \pm 4.5 ^b	201.5 \pm 13.6 ^c
Food Intake (g)	SO	397.3 \pm 3.1 ^{A*}	341.5 \pm 31.2 ^{B*}	326.8 \pm 23.5 ^{C*}
Protein (g)	FO	48 \pm 2.7 ^a	38 \pm 2.0 ^b	30 \pm 2.2 ^c
	SO	58 \pm 1.9 ^{A*}	51 \pm 4.7 ^{B*}	49 \pm 3.5 ^{C*}
Fat (g)	FO	16 \pm 0.9 ^a	25 \pm 1.2 ^b	30 \pm 2.2 ^c
	SO	20 \pm 1.9 ^{A*}	34.6 \pm 3.1 ^{B*}	49 \pm 3.5 ^{C*}
Food Efficiency (%)	FO	44.32 \pm 0.9 ^a	40.51 \pm 1.5 ^{ab}	38.1 \pm 2.7 ^b
	SO	44.96 \pm 1.3 ^A	43.29 \pm 3.3 ^A	45.98 \pm 3.6 ^{A*}

FO: Fish oil; SO: sesame oil.

Values are means \pm SEM, $n=8$. The intratreatment effects of the increasing amounts of dietary oil were tested by Duncan's multiple range test. Means not sharing same superscript are significantly different, $p < 0.05$. Upper-case letter were used fo SO treatment, lower-case letter were used for FO treatment. Intertreatment effects at each dietary oil concentration were tested by Student's t-test. Values with and asterisk are significantly different $p < 0.05$.

$$\text{Food Efficiency} = \frac{\text{Total growth (g)}}{\text{Total food intake (g)}} \times 100$$

Hematologic parameter.- Hb concentration among groups fed SO diets showed no differences Table 4. Data from FO on the contrary, showed an Hb concentration markedly reduced when fish oil was fed above 5%, which resulted into significant changes ($p < 0.05$) when comparing F10 vs S10 and F15 vs S15. Packed red cell volume (PRCV) (Table 4) consistently reflected the Hb results inter and intra treatments. In general, the hematologic values for groups fed FO diets were lower compared to control oil (SO). Mean corpuscular concentration (MCHC) index (Table 4) decreased with increasing amounts of dietary oils, this effect was remarkable in F10 and F15 groups.

TABLE 4
EFFECTS OF INCREASING AMOUNTS OF DIETARY OILS ON HB, PRCV, AND MCHC

	Dietary Oil	Concentration of dietary oils g/100g diet		
		5	10	15
Hb (g/100mL)	FO	12.1+/-0.2 ^a	9.8+/-0.4 ^b	10.1+/-0.3 ^c
	SO	13.1+/-0.7 ^{A*}	13.1+/-1.1 ^{A*}	13.9+/-0.3 ^{A*}
Protein (%)	FO	38.3+/-0.6 ^a	32.7+/-1.3 ^b	32.8+/-1.8 ^b
	SO	40.0+/-3.1 ^{A*}	38.4+/-1.2 ^{A*}	42.3+/-0.7 ^{A*}
MCHC (%)	FO	16+/-0.9 ^a	25+/-1.2 ^b	30+/-2.2 ^c
	SO	35.0+/-0.9 ^{A*}	33.9+/-1.0 ^{A*}	33.1+/-0.3 ^{A*}

FO: Fish oil; SO: sesame oil.

Values are means +/- SEM, n=8. The intratreatment effects of the increasing amounts of dietary oil were tested by Duncan's multiple range test. Means not sharing same superscript are significantly different, p<0.05. Upper-case letter were used for SO treatment, lower-case letter were used for FO treatment. Intertreatment effects at each dietary oil concentration were tested by Student's t-test. Values with different an asterisk are significantly different p<0.05.

DISCUSSION

Rats adjust energy input by reducing food intake when caloric density is increased (31). In agreement with this, food intake decreases significantly (P<0.05) when dietary SO increases above 5% level, however the rate of growth was persistently normal as well as the food efficiency. On the contrary, the FO diets caused a reduction in food intake, lowered food efficiency (Table 3) (P<0.05) and a considerable lower growth rate. Growth rate showed two groups of curves, one with a normal growth rate and similar food efficiency (S5, S10, S15 and F5) and another group with clearly low growth rate (F10 and F15) (Fig. 1). In general, growth retardation results from dietary restriction or chronic ingestion of unbalanced diets. In this study protein ingestion was reduced in the F10 and F15 groups but not in the others (Table 3), the low growth rate showed by F10 and F15 could reflect poor protein synthesis as judge by impaired food efficiency.

The unbalance in essential fatty acids in the experimental FO diets [low (n-6)/(n-3) ratio] could explain the lower intake and the poor food efficiency showed by F10 and F15 groups. In this study the anemia syndrome produced by diets containing FO above 5% (w/w) shows that FO, when present as a major caloric source, interferes with erythropoiesis. Our hematologic findings rule out hemolysis, evidenced by normal reticulocyte count (data not shown) and are more indicative of a hypochromic anemia. Moreover, others investigators have shown an increase in red cell deformability after FO treatments (17-18).

Since, on the other hand, bleeding has not occurred, iron bioavailability should be considered carefully. In this context,

considering that gastrointestinal absorption of non-heme iron is subjected to the interactions of macronutrients present in the diet (32), thus FO could conceivably interfere with its absorption.

However, the degree of fatty acid unsaturation does not have a marked effect on iron absorption, at least on diets with more than 5% dietary fat (33). Moreover, increasing the amounts of dietary fat enhanced non-heme iron absorption regardless of the type (34).

In view of these considerations, we can't reject some degree of inhibition of iron absorption by FO because ferrokinetics was not assessed in our study.

We can't attribute the diminished Hb concentration in our results entirely to the reduction of protein intake, since anemia of protein malnutrition is observed only with more restricted protein ingestion.

On the other hand, we should take into account that our experimental diets marginally covered the essential nutrient requirement for (n-6) fatty acid of weanling rats. In fact, they provided 0.22; 0.42 and 0.60% of total dietary energy as (n-6) fatty acid in diets F5, F10 and F15 formulations respectively, which is below the near 1% requirement value found by Pudelnkewicz (35). Therefore, it is possible that the anemia may be due to a general inhibition of new tissue formation in growing animals, as a consequence of the partial (n-6) fatty acid deficiency. In fact, phospholipid structure in the red cell membrane is rich in linoleic and araquidonic acids. In addition, it has been shown that FO due to its high content of 20:5(n-3) and 22:6(n-3) fatty acids inhibits $\Delta 6$ and $\Delta 5$ desaturases, which are the enzymes responsible for the reactions (36-37). Thus, even a partial restriction on linoleic intake, in diets high in (n-3) fatty acids might hamper growth and new tissue formation. This is specially true in growing animals when a considerable mass of cell membranes is being formed. Besides erythropoiesis, other hematopoietic cell lines are affected under these conditions since thrombocytopenia has been repeatedly reported by several workers (19-22).

Because growth of rats was markedly retarded in groups fed FO above 5% the implication are that a low (n-6)/(n-3) ratio might impair protein synthesis, as well as affect hematopoietic function. Whether supplementation of the diets with SO enough to avoid a low (n-6)/(n-3) ratio could have functional consequences leading to restore functions needs further investigation. The link between hematopoietic function and dietary (n-6)/(n-3) ratio deserves more attention and further studies to test this possibility.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors are gratefully thanked to RpScherer CO. (Caracas, Venezuela) for kindly providing us the fish oil. Dr. Dominguez wish to thank Pat and George Terhune for their valuable help.

Part of this work was supported by the Consejo de Desa-

rollo Científico y Humanístico (C.D.C.H.) of the Universidad Central de Venezuela N° 10.027/92; Grant N° 10.10.2773.92.

REFERENCES

- Farquhar, J.W., Maccoby, N., Wood P.D. & Alexander, J. Community education for cardiovascular health. *Lancet* i:1192-1195, 1977.
- Posner, B.M., DeRusso P.A., Norquist, S.L. & Erick, M.A. Preventive nutrition intervention in coronary heart disease: Risk assessment and formulating dietary goals. *J. Am. Diet. Assoc.* 86:1395-14013, 1986.
- Ginsberg, H. N et al. Reduction of Plasma Cholesterol Levels in Normal Men on an American Heart Association Step 1 or Step 1 Diet with added Monounsaturated Fat. *N. Engl. J. Med.* 322:574-579, 1990.
- Ornish, D., Brown, S.E., Scherwitz, L.W. et al. Can lifestyle changes reverse coronary heart disease?. *Lancet* 336:129-133, 1990.
- Kromhout, D., Bosschieter, E.B. & De Lezenne Coulander, C. The inverse relation between fish consumption and 20-year mortality from coronary heart disease. *N. Engl. J. Med.* 312:1205-1209, 1985.
- Herold, P.M. & Kinsella, J.E. Fish oil consumption and decreased risk of cardiovascular disease: A comparison of findings from animal and human feeding trials. *Am. J. Clin. Nutr.* 43:566-598, 1986.
- Dyerberg, J., Bang, H.O & Hjorne, N. Fatty acid composition of the plasma lipids in Greenland Eskimos. *Am. J. Clin. Nutr.* 28:958-966, 1975.
- Bang, H.O., Dyerberg, J. & Sinclair H.M. The composition of the eskimo food in north western Greenland. *Am. J. Clin. Nutr.* 33:2657-2661, 1980.
- Sanders, T.A.B. & Roshanai, F. The influence of different types of w-3 polyunsaturated fatty acids on blood lipids and platelet function in healthy volunteers. *Clin. Sci.* 64:91-99, 1983.
- Harris, W.S., Connor, W.E. & McMurry, M.P. The comparative reductions of the plasma lipids and lipoproteins by dietary polyunsaturated fats: Salmon oil versus vegetable oils. *Metabolism* 32:179-84, 1983.
- Hamberg, M. Transformations of 5,8,11,14,17, eicosapentaenoic acid in human platelets. *Biochim. Biophys. Acta* 618:389-398, 1980.
- Dyerberg, J. & Bang, H.O. Haemostatic function and platelet polyunsaturated fatty acids in Eskimos. *Lancet* ii:433-435, 1979.
- Needleman, P., Raz, A., Minkes, M.S., Ferrendelli, J.A. & Sprecher H. Triene Prostaglandins: Prostacyclin and Thromboane Biosynthesis and Unique Biological Properties. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 76:944-948, 1979.
- Thorngren, M. & Gustafson, A. Effects of 11-Week increase in dietary eicosapentaenoic acid on bleeding time, lipids and platelet aggregation. *Lancet* ii:1190-1193, 1981.
- Tamura, Y, Hirai, A., Terano, T., Yoshida, S., Takenaga, M. & Kitagawa, H. Anti-thrombotic and Anti-atherogenic action of eicosapentaenoic acid. *Jap. Cir. J.* 51: 471-477, 1987.
- Clarke, S.D., Armstrong, M.K. & Jump, D.B. Dietary Polyunsaturated Fats Uniquely Suppress Rat Liver Fatty Acid Synthase and S14 mRNA content. *J. Nutr* 120:225-231, 1990.
- Woodcock, B.E., Smith, E., Lambert, W.H., Morris Jones, W., Galloway, J.H., Greaves, M. & Preston, F. E. Beneficial effects of fish oil on blood viscosity in peripheral vascular disease. *Br. Med. J.* 288:592-594, 1984.
- Terano, T., Hirai A., Hamazaki, T., Kobayashi, S., Fujita, T., Tamura, Y. & Kumagai, A. Effect of oral administration of highly purified eicosapentaenoic acid on platelet function, blood viscosity and red cell deformability in healthy human subjects. *Atherosclerosis* 46:321-331, 1983.
- Lorenz, R., Spengler, U., Fischer, S., Duhm J. & Weber, P.C. Platelet function, thromboxane formation and blood pressure control during supplementation of western diet with cod liver oil. *Circulation.* 67:504-511, 1983.
- Saynor, R., Verel, D., Gillot, T. The long term effect of dietary supplementation with fish lipid concentrate on serum lipids, bleeding time, platelets and angina. *Atherosclerosis.* 50:3-10, 1984.
- Goodnight, S.H Jr., Harris, W.S. & Connor, W.E. The effects of dietary w-3 fatty acids on platelet composition and function in man: A prospective controlled study. *Blood* 58:880-885, 1981.
- Houwelingen R.V., Nordoy, A., Beek, E. v.d., Houtsmuller, U., Metz M.d. & Hornstra G. Effect of a moderate fish intake on blood pressure, bleeding time, hematology, and clinical chemistry in healthy males. *Am. J. Clin. Nutr.* 46:424-436. 1987.
- Sanders, T.A.B. and Hinds, A. The influence of a fish oil high in docosahexaenoic on plasma lipoprotein and vitamin E concentration and haemostatic function in healthy male volunteers. *British. J. Nutr.* 68:163-173, 1992.
- Sinclair, H.M. The relative importance of essential fatty acids of the linoleic families: Studies with an Eskimo diet. *Prog. Lipid. Res.* 20:897-899, 1981.
- Committee on care and use of laboratory animals, Institute of Laboratory Animal Resources Commission on Life Sciences, National Research Council. Guide for the care and use of laboratory animals. National Institutes of Health Publication N° 85-23, 1985.
- American Institute of Nutrition. Report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Committee on Standards for Nutritional Studies. *J. Nutr.* 107:1340-1348, 1977.
- Association of Official and Analytical Chemist. Official Methods of Analysis N° 2057 13ed. AOAC. Washington D.C. 1980.
- American Oil Chemist's Society. Official and Recommended Practices of the American Oil Chemist's Society, Vol 1. Methods: Cd 8-53 and Ba 3-38 AOCS, Champaign, IL, 1973.
- Mangold, H.K. Methanolysis with methanol-sulphuric acid. In: *Thin-Layer Chromatography. M. aliphatic lipids* (Stahl, E., ed), pp.372-373, Springer Verlag, 1969.
- King E.J. & Gilchrist, M. Determination of haemoglobin by a cyanhaematin method. *Lancet* ii:201, 1947.
- De Lorme, C.B & Wojcik, J. Interaction of dietary protein with cellulose in the adaptation to caloric dilution by weanling rats. *J. Nutr.* 112:21-28, 1982.

32. Layrisse, M. Dietary iron absorption In: Iron Metabolism and its Disorders. Proceedings of the Third Workshop Conference, Hoechst (H.Kief, ed). Vol. 3 N°366 pp25-33. Excerpta Med. Int Congr. 1975.
33. Johnson, P.E., Lukaski, H.C. & Bowman, T.D. Effects of level and saturation of fat and iron level and type in the diet on iron absorption and utilization by the rat. J. Nutr. 117:501-507. 1987.
34. Bowering, J., Masch G.A. & Lewis, A.R. Enhancement of iron absorption in iron depleted rats by increasing dietary fat. J. Nutr. 107:1687-1693, 1979.
35. Pudalkewicz, C., Seufert, J. & Holman, R.T. Requirements of the female rat for linoleic and linolenic acids. J. Nutr. 94:138-146. 1968.
36. Garg, M.L., Thomson, A.B.R. & Clandinin, M.T. Effect of dietary cholesterol and/or w-3 fatty acids on lipid composition and Δ^5 desaturase activity of rat liver microsomes. J. Nutr. 118:661-668. 1988.
37. Schrijver, R.D & Privett, O.S. Effects of dietary long-chain fatty acids on the biosynthesis of unsaturated fatty acids in the rat. J. Nutr. 112:619-626. 1982.

Recibido : 10-05-1993

Aceptado : 02-02-1994

Efecto de la restricción en el consumo de alimento de la rata adulta sobre el crecimiento y la composición tisular de la cría lactante¹

Lourdes Barbosa² y Soledad De Santiago²

Unidad de Investigación Médica en Nutrición, Hospital de Pediatría, Centro Médico Nacional, Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) - México D.F., México

RESUMEN. Se estudió el efecto de la restricción de alimento en la rata adulta desde el embarazo y la lactancia sobre el crecimiento postnatal y la composición tisular de la cría. Se utilizaron dos grupos de ratas, uno alimentado a libre demanda (LD) y otro alimentado con una restricción del 30% de la dieta habitual (RA). La restricción de alimento se inició a partir del 8º día de embarazo y continuó hasta el día 21º de lactancia. Se registró diariamente el consumo de alimento y el peso corporal de la rata adulta. En la cría se registró diariamente el peso corporal y la longitud de la cola como un indicador de la longitud corporal. Los días 7, 14 y 21 de lactancia se sacrificaron las crías. Se disecó el hígado y el músculo esquelético de las extremidades posteriores y se les determinó peso húmedo, peso seco, proteínas y ácidos nucleicos. Resultados: En la lactancia el grupo de ratas adultas LD presentó un peso corporal mayor que el RA, ambos grupos aumentaron su ingesta 300% en la lactancia. En la cría no se observó diferencia en peso y longitud al nacimiento. Al finalizar la lactancia el crecimiento de la cría fue menor para el grupo de RA. En hígado y músculo esquelético, el peso húmedo y seco, proteínas, DNA y RNA fueron menores. Se concluye que la restricción de alimento en la rata adulta desde el embarazo y durante la lactancia afecta negativamente el crecimiento postnatal, así como la composición tisular del hígado y de la masa muscular de la cría.

SUMMARY. Effect of food restriction consumed by dam rat during pregnancy and lactation on the postnatal growth and tissue composition of the pups. The repercussion of food restriction consumed by the adult rat during pregnancy and lactation, on the postnatal growth and tissue composition of the young was evaluated during lactation. Two groups of Sprague-Dawley rats were used, one control group was fed «ad libitum» (AL) and the other group, a restricted diet (RD), 30% less of the normal diet. From the eighth day of pregnancy and throughout lactation, the food intake and weight of the animals was registered daily. At birth the number of young was adjusted to eight and the weight and tail length were registered daily. At 7, 14, and 21 days of lactation the young of both groups were sacrificed. The liver and the muscles of the extreme posterior were dissected and the wet weight, dry weight, proteins and nucleic acids determined. The mother rats fed «ad libitum» increase their intake to 300% from the first day of lactation and they presented a greater body weight than those rats under restricted diet, also begun on the first day of lactation. At birth there were no differences in the weight and the length of the young, however at the end of the lactation the growth rate was significantly lower among the group of rats RD. In the group of young under RD, protein and nucleic acids concentration in the liver were significantly less than those of the AL group and similarly in the muscle, the dry weight, proteins, RNA and DNA were significantly less. From these results it is concluded that the food restriction of the adult rat by 30% during lactation, has a negative effect on the postnatal growth of the young, in terms of weight, length, liver tissue composition and muscular mass.

-
- 1 Esta investigación fue financiada por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología de México. Proyecto Clave PCALBNA-021565.
 - 2 Investigadora de la Unidad de Investigación Médica en Nutrición, Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS. Apartado Postal 7-1069. México, D.F. CP 06700 México.

INTRODUCCION

Para los mamíferos la alimentación con leche materna representa un medio para alcanzar su desarrollo completo en la primera etapa de la vida. En la rata al igual que en el humano el período de lactancia, representa una etapa crítica para su

desarrollo y crecimiento posteriores. El estado nutricional de la madre juega un papel importante ya que para lograr una lactancia adecuada, la madre debe disponer de nutrientes en cantidades suficientes para la síntesis de los componentes de la leche, ya sea a partir de la dieta materna o de las reservas corporales acumuladas durante el embarazo (1). Si la dieta no es suficiente, las reservas maternas y la participación tisular son necesarias para sintetizar la leche necesaria para el crecimiento de la cría (2-4).

Se ha estudiado previamente el efecto de la dieta materna durante el embarazo y la lactancia sobre el crecimiento de las crías. En las ratas con retardo en el crecimiento intrauterino, ocasionado por la insuficiencia vascular placentaria se observó que el peso corporal y el peso de algunos tejidos como el hígado y el cerebro se incrementó cuando se les sometió a una alimentación postnatal adecuada (5). Así mismo se ha observado en diseños experimentales de desnutrición pre y postnatal (6) una disminución en el tamaño del hígado, páncreas e intestino, poniendo de manifiesto el gran impacto que tiene la alimentación durante la lactancia sobre el desarrollo de los diferentes tejidos en la cría de la rata. Por otro lado, carecemos de información acerca de imponer a la rata madre a una restricción de alimentos y observar el efecto sobre el desarrollo y la composición de la masa muscular de la cría.

El presente trabajo tiene como objetivo describir el efecto de la restricción en el consumo de alimentos de la rata madre desde el embarazo y durante la lactancia, sobre el crecimiento postnatal y la composición tisular del hígado y de la masa muscular de la cría.

MATERIAL Y METODOS

Se utilizaron 36 ratas hembras, de la cepa Sprague-Dawley mantenidas en condiciones de luz-oscuridad (0700-1900 hs), temperatura de 22°C, alimentadas a libre demanda desde los 21 días de edad con una dieta no purificada comercial que contiene 23% de proteínas y 1556 KJ/100g de peso seco (Nutricubos, Purina Co., Guadalajara, Méx.). A la semana 15 de edad las ratas con un peso corporal 240 ± 20 g fueron puestas en contacto con ratas machos de la misma cepa. El primer día de embarazo se determinó, mediante la detección de espermatozoides en el frotis vaginal. Al octavo día de embarazo los animales fueron asignados aleatoriamente a cada uno de los siguientes grupos:

Grupo LD: 18 ratas adultas alimentadas a libre demanda.

Grupo RA: 18 ratas adultas para ser sometidas a una restricción en el consumo de alimentos, la cual consistió en proporcionar diariamente el 70% del peso promedio de alimento consumido el día anterior por el grupo a libre demanda (restricción de alimento al 30%).

El tratamiento dietario se mantuvo desde el embarazo y durante todo el período de lactancia. Durante el estudio los animales dispusieron de agua a libre demanda. A los dos grupos se les permitió llevar a término el embarazo. Al primer

día post-parto se ajustó la camada a 8 crías por rata y fue considerado como el primer día de lactancia, la que se desarrolló hasta los 21 días post-parto, tiempo en que se realizó la separación de las crías.

Valoración del peso corporal y de la ingesta de alimento materna.

Se realizó el registro diario del peso corporal utilizando una balanza granataria marca Ohaus con una precisión de 1 g. La medición diaria del consumo de alimento se realizó colocando a cada animal 100 g de alimento alrededor de las 9:00 AM y el residuo no consumido retirado al día siguiente a la misma hora. La diferencia entre el alimento colocado y residual fue considerado como el alimento consumido.

Valoración del crecimiento en la cría.

Se realizó el registro diario del peso corporal y la medición de la longitud de la cola como un indicador de la longitud del animal. La longitud de la cola fue medida adosándola a una superficie rígida, utilizando un Vernier. El peso corporal se midió en una balanza granataria.

Valoración de la composición de los tejidos de la cría.

Se realizó el sacrificio los días 7, 14 y 21 de lactancia, tiempos que corresponden a la primera semana, a la etapa de máxima producción láctea y al final de la lactancia respectivamente. En los días señalados, las crías macho de 6 ratas de cada grupo fueron sacrificadas con éter y disecados el hígado y el paquete muscular de las extremidades posteriores. Se registró el peso húmedo y seco de los tejidos. Una fracción de los tejidos fue homogeneizada en solución salina isotónica en proporción 1:10 (p/v) a 4°C, en un homogeneizador marca Polytron. En alícuotas del homogenado se procedió a cuantificar la concentración de proteínas por el método de Itzhaki y Gill (7). Se realizó la extracción de ácidos nucleicos por el procedimiento de Shneider (8); las concentraciones de DNA y RNA se determinaron en el extracto mediante la reacción colorimétrica de la desoxirribosa con difenilamina y la ribosa con orcinol de acuerdo a los métodos descritos por Giles (9) y Munro (10) respectivamente.

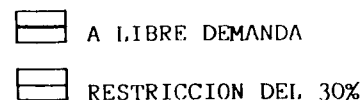
Los resultados se expresan como promedio \pm desviación estándar. El manejo de datos se realizó utilizando una computadora PC, los sistemas computacionales utilizados fueron Lotus y MINITAB. La ganancia de peso y la longitud de la cría fueron analizadas utilizando un ajuste polinomial. Con el fin de detectar diferencias en el crecimiento de la cría entre el grupo alimentado a libre demanda y el de restricción de alimento se realizó ANOVA de una vía, seguido por T de Student. Para identificar diferencias en la composición de los tejidos entre los diferentes días de edad post-natal y entre los dos tipos de alimentación se realizó ANOVA de dos vías. El nivel de significación fue de una $p < 0.05$.

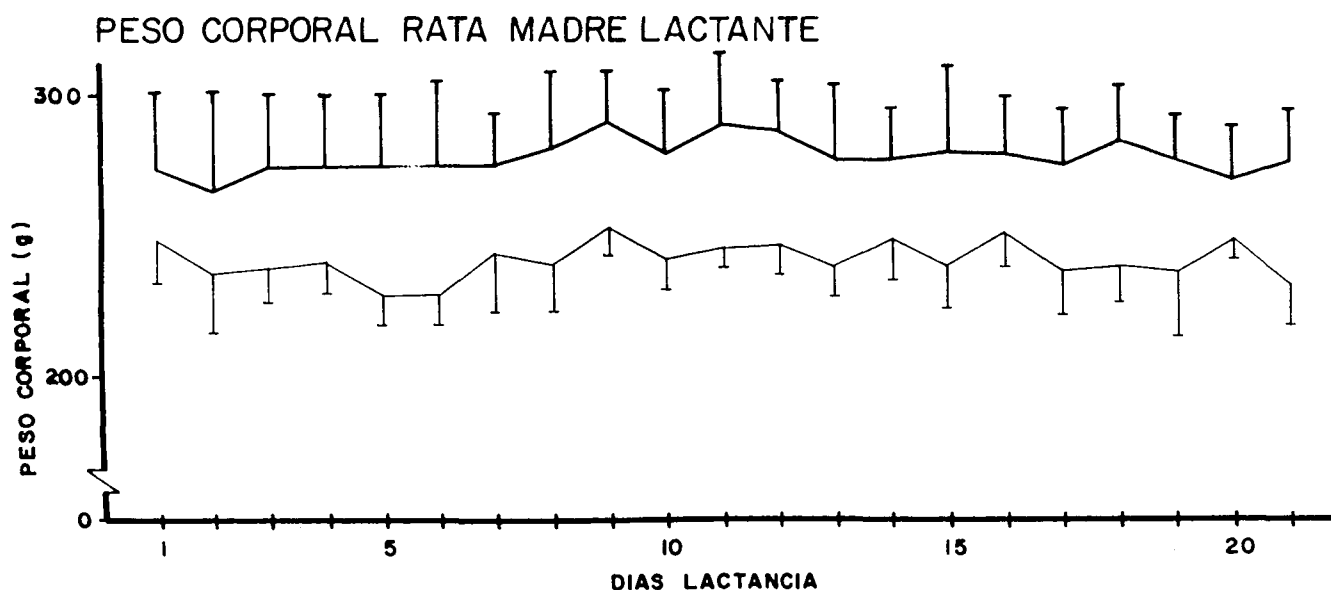
RESULTADOS

Peso corporal de la rata madre. El grupo de ratas adultas alimentadas a libre demanda presentó un peso corporal promedio de 280 ± 20 g, mayor al que presentaron las ratas adultas bajo restricción de alimento (250 ± 15 g). Esta diferencia ($p < 0.001$) se mantuvo durante toda la lactancia. Figura 1.

Consumo de alimento de la rata madre. Las ratas alimentadas a libre demanda aumentaron su ingesta a partir del primer día postparto de 19.8 ± 5.9 g hasta 68.6 ± 7.3 g al final de la lactancia. En la Figura 2 se observa como fue el patrón de alimentación para los dos grupos estudiados observándose la diferencia de un 30% menor en el consumo del grupo con restricción ($p < 0.001$).

FIGURA 1





Peso corporal y longitud de la cría lactante. El peso corporal de las crías de ratas bien alimentadas (LD) fue al nacimiento de 7.0 ± 0.6 g incrementándose hasta 37.9 ± 6.0 g a los 21 días de edad en que fueron destetadas Figura 3. El peso corporal en este grupo fue significativamente menor al del grupo de crías bien alimentadas durante toda la lactancia ($p < 0.001$). La longitud de la cola presentó un patrón similar. El primer día de lactancia la longitud de las crías del grupo LD fue de 1.85 ± 0.18 contra 1.66 ± 0.13 cm de las crías del grupo RA. Al finalizar la lactancia alcanzaron una longitud de 9.37 ± 0.54 y 8.21 ± 0.61 cm respectivamente ($p < 0.01$) Figura 4.

Composición de los tejidos de la cría. El peso húmedo, el peso seco, el contenido de proteínas, RNA y DNA se expresan en g y mg por tejido total, considerándose el hígado como órgano íntegro y en el caso del músculo esquelético como tejido total a la cantidad de masa muscular obtenida de las dos extremidades posteriores de la cría después de una cuidadosa disección.

Hígado. El peso húmedo del hígado en ambos grupos aumentó progresivamente con la edad, se observó una diferencia entre los 7 y los 21 días de cerca de un gramo ($p < 0.001$). El peso húmedo del hígado del grupo LD (0.53, 0.87 y 1.66 g) fue mayor en los tres tiempos, al del grupo RA (0.47, 0.72 y 1.31 g) ($p < 0.01$). El peso seco referido como mg por tejido total fue mayor en el grupo LD (114.2, 197.7 y 416.3 mg) en comparación al grupo RA (98.8, 164.3 y 314.3 mg) ($p < 0.001$). Tabla 1. El contenido de proteínas expresado por tejido total aumentó progresivamente con la edad en ambos grupos, de tal manera que se triplicó a los 21 días de edad ($p < 0.001$). Al finalizar la lactancia el contenido de proteínas del hígado de las crías RA fue menor (269.8 ± 33.5 mg) en comparación al del hígado de las crías LD (312.1 ± 85.0 mg) ($p < 0.01$). Las concentraciones tisulares de RNA y DNA aumentaron progresivamente con la edad en ambos grupos, observándose concentraciones menores en el grupo RA (RNA 2.1, 3.2 y 6.7, DNA 0.8, 1.5 y 1.9 mg) que en el de LD (RNA 2.3, 5.3 y 9.1, DNA 1.5, 1.8 y 2.9 mg) a los tres tiempos estudiados ($p < 0.001$) Tabla 2.

FIGURA 2

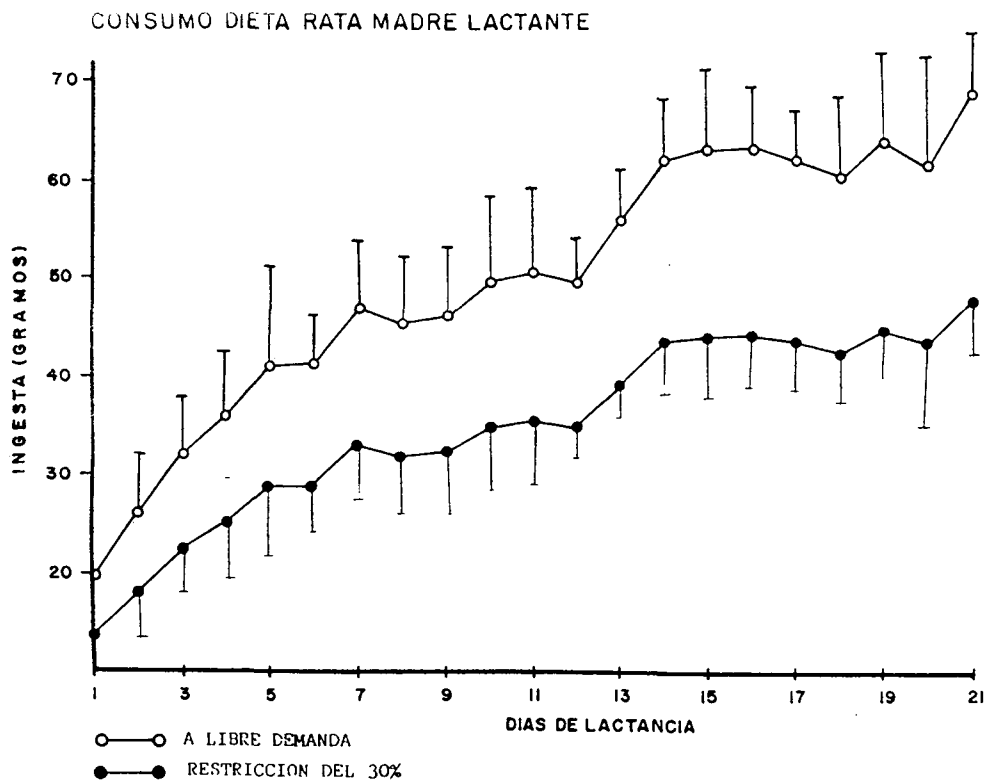


FIGURA 3

PESO CORPORAL DE LAS CRIAS LACTANTES

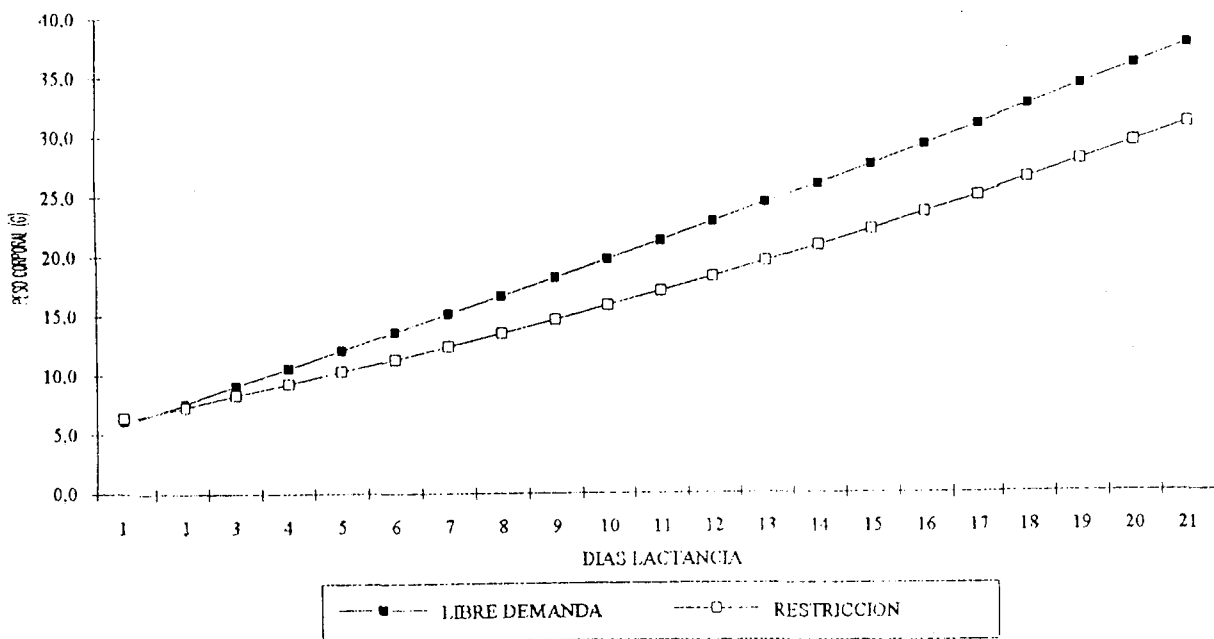


FIGURA 4

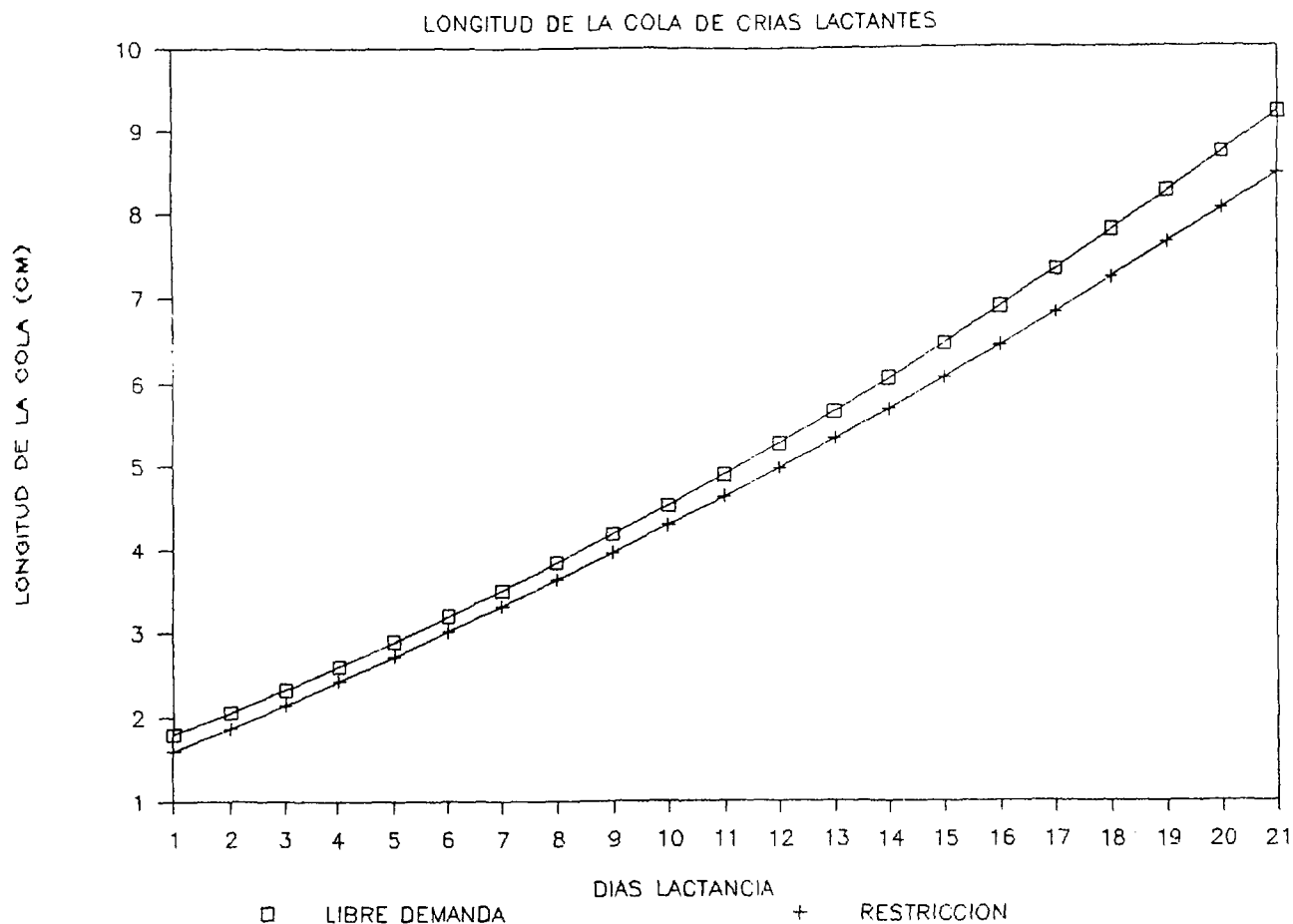


TABLA 1
PESO HUMEDO Y SECO DEL HIGADO DE LAS
CRIAS LACTANTES

Días de edad	Peso húmedo gramos		Peso seco mg/tejido total	
	LD	RA	LD	RA
7	0.53 (0.08)	0.47** (0.09)	114.2 (14.9)	98.8** (16.1)
14	0.87 (0.17)	0.72** (0.11)	197.7 (37.9)	164.3** (24.3)
21	1.66* (0.31)	1.31* ** (0.11)	416.3* (61.5)	314.3* ** (27.8)

LD= Crías del grupo alimentado a libre demanda. RA= Crías del grupo con restricción de alimentos. Valores expresados como Promedio (DE) para 5-8 ratas. *p<0.001 contra 7 días **p<0.01 contra grupo LD.

TABLA 2
CONTENIDO DE PROTEÍNAS, RNA Y DNA DEL
HIGADO DE LAS CRIAS LACTANTES

Días de edad	Proteínas		RNA mg / tejido total		DNA	
	LD	RA	LD	RA	LD	RA
7	95.9 (20.5)	79.6** (13.1)	2.3 (0.3)	2.1** (0.5)	1.5 (0.2)	0.8 ** (0.3)
14	148.5 (46.9)	137.0 ** (37.7)	5.3 (0.9)	3.2 ** (0.4)	1.8 (0.4)	1.5 ** (0.3)
21	312.1* (85.0)	269.8*** (33.5)	9.1* (1.4)	6.7*** (0.8)	2.9* (0.7)	1.9*** (0.5)

LD= Crías del grupo alimentado a libre demanda. RA= Crías del grupo con restricción de alimentos. Valores expresados como Promedio (DE) para 5-8 ratas. *p<0.001 contra 7 días **p<0.05 contra grupo LD.

Músculo. Los pesos húmedo y seco del tejido total aumentaron progresivamente con la edad en ambos grupos, el mayor incremento ocurrió después del día 4 (300%) ($p < 0.001$); al llegar a los 21 días de lactancia se observó que los pesos tanto húmedo como seco del paquete muscular fueron significativamente menores ($p < 0.05$) en las crías RA en comparación de las crías LD (Tabla 3). El contenido muscular proteínico aumentó progresivamente con la edad, con un aumento del 600% entre el 7º (53.2 ± 15.7 mg) y el 21º día (281.2 ± 62.1 mg) en el grupo LD y un aumento del 750% entre el 7º (27.3 ± 5.9 mg) y el 21º día (205.5 ± 44.4 mg) en el grupo RA ($p < 0.001$). El contenido de proteínas de la masa muscular fue mayor en el grupo LD en comparación al grupo RA ($p < 0.01$). Las concentraciones de RNA y DNA en mg por tejido total presentaron el mismo patrón, aumentaron progresivamente con la edad siendo diferentes en cada tiempo estudiado ($p < 0.001$) y menores en las crías RA en comparación a la crías LD ($p < 0.01$). (Tabla 4).

TABLA 3
PESO HUMEDO Y SECO DEL PAQUETE MUSCULAR
DE LAS EXTREMIDADES POSTERIORES DE LAS
CRIAS

Días de edad	Peso húmedo g / tejido total		Peso seco mg / tejido total	
	LD	RA	LD	RA
7	0.40 (0.05)	0.31 (0.05)	86.74 (15.94)	54.96 (15.92)
14	0.59 (0.16)	0.65 (0.12)	110.29 (32.05)	123.78 (10.62)
21	1.77* (0.32)	1.47* (0.32)	395.11* (79.75)	306.09*** (65.35)

LD= Crías del grupo alimentado a libre demanda. RA= Crías del grupo con restricción de alimentos. Valores expresados como Promedio (DE) para 5-8 ratas. * $p < 0.001$ contra 7 días ** $p < 0.01$ contra grupo LD.

TABLA 4
CONTENIDO DE PROTEÍNAS, RNA Y DNA DEL
MUSCULO DE LAS CRIAS LACTANTES

Días de edad	Proteínas		RNA mg / tejido total		DNA	
	LD	RA	LD	RA	LD	RA
7	53.2 (15.7)	27.3 (5.9)	0.9 (0.1)	0.6 (0.1)	0.9 (0.1)	0.4 (0.2)
14	65.7 (23.7)	67.4 (9.3)	1.2 (0.5)	1.1 (0.1)	0.7 (0.2)	0.6 (0.1)
21	281.2* (62.1)	205.5* (44.4)	2.3* (0.4)	2.1* (0.8)	1.2* (0.3)	1.0* (0.3)

LD= Crías del grupo alimentado a libre demanda. RA= Crías del grupo con restricción de alimentos. Valores expresados como Promedio (DE) para 5-8 ratas. * $p < 0.001$ contra 7 días ** $p < 0.01$ contra grupo LD.

DISCUSION

En los países en vías de desarrollo existen numerosas madres en las áreas rurales y urbanas pobres, las cuales mantienen una lactancia con volúmenes de leche suficientes para el crecimiento de sus hijos a pesar de una nutrición subóptima o marginal (11). Se desconocen cuales son las adaptaciones metabólicas que tiene que efectuar su organismo para poder sostener la demanda impuesta por la lactancia. En este estudio se desarrolló un diseño experimental que nos permite describir el efecto de la restricción de los alimentos iniciada desde el embarazo y continuada durante la lactancia, sobre el crecimiento y desarrollo de la cría. En la rata se ha observado que cuando se disminuye la ingesta de alimento desde el día cero de embarazo, disminuye el número de implantaciones y aumenta la reabsorción de los productos como respuesta a la restricción (12), motivo por el que en este estudio se inicio la restricción de alimento al octavo día de embarazo después de la implantación del huevo (13).

En este estudio la rata adulta alimentada a libre demanda durante la lactancia aumenta su ingesta en un 300% y su peso corporal en un 20% en comparación al tiempo pre-embarazo, datos que coinciden con lo referido anteriormente para ratas de la misma cepa y de edad similar (14). Las crías a partir del día 12 consumen parte del alimento que se le ofrece a la madre, lo cual se puede ver reflejado para ambos grupos en el registro del consumo de alimento de la rata madre. El peso corporal de la rata sometida a restricción de alimento, no alcanzó el peso de la rata alimentada libremente, incluso su peso permaneció similar al peso pre-embarazo, por lo que consideramos que una restricción de alimento del 30% afecta importantemente el estado nutricional de la rata adulta, probablemente debido a una menor acumulación de reservas grasas durante el embarazo (15). Tomando en cuenta el gasto energético que impone la lactancia, el incremento en la ingesta de la rata que amamanta, confirma el papel que presenta la dieta materna en cubrir la demanda impuesta por la síntesis de leche. Las observaciones de que no aumenta el peso corporal en la rata con restricción y de que existe una desaceleración en el crecimiento de sus crías nos sugieren que tal vez la producción láctea se ve afectada, disminuyendo el consumo energético de la cría; sin embargo en este trabajo no medimos la producción ni la composición de la leche de la rata. Otros investigadores han referido que la leche de la rata no se ve modificada a menos que se realice una restricción de alimento por arriba de 60%, observando una disminución en la concentración de proteína, lípidos y lactosa de la leche (16). Diferencias en el diseño hacen difícil una comparación con este trabajo.

A las 24 horas posteriores al parto se realizó el ajuste de la camada a 8 crías, con el cuidado de mantener el número hasta que finalizara la lactancia; el tamaño de la camada representa una variable de confusión que debe ser considerada al estudiar el crecimiento de la cría (17). La valoración de la medición de la longitud de la cola en la rata, ha sido considerada como una

forma práctica y de mayor precisión para el registro del crecimiento longitudinal de la rata. Observamos que al parto no existen diferencias ni en el peso ni en la longitud de las crías de ratas con restricción, es hasta el 5º día postnatal en el caso de la ganancia de peso y en el 16º día en el caso de la longitud, que se observa una desaceleración en el crecimiento de la cría. Las ratas madres sometidas a una restricción de alimento no fueron capaces de sostener el crecimiento de sus crías durante la lactancia.

Para estudiar el efecto de la alimentación materna en la rata que amamanta sobre la composición de los tejidos de la cría, se seleccionó al hígado por ser considerado el órgano principal en el metabolismo de los nutrientes y el músculo esquelético por constituir el 45% del peso corporal total y ser un blanco importante en caso de privación nutricional.

Las crías amamantadas por ratas con deficiente alimentación presentaron un menor desarrollo tanto del hígado como de la masa muscular, probablemente en respuesta a un bajo consumo energético por parte de la cría y debido a una menor producción láctea por parte de la madre. En este trabajo podemos concluir que el consumo insuficiente de alimento por la rata madre presenta un efecto negativo sobre el crecimiento y desarrollo tisular de las crías, por lo que es necesario conocer cual es el efecto directo de la dieta materna sobre la producción y composición de la leche de la rata.

REFERENCIAS

- Whithead R.G., M. Lawrence & Prentice A. Maternal nutrition and breastfeeding. *Hum. Nut. Appl. Nutr.*, 40A Suppl:1-10, 1986.
- Moore B.J. & J.A. Brasel. One cycle of reproduction consisting of pregnancy, lactation or no lactation, and recovery. Effects on carcass composition in «ad libitum» fed and food restricted rats. *J. Nutr.*, 114:1548-1559, 1984.
- Roberts S.B. & W.A. Coward. Lactation increase the efficiency of energy utilization in rats. *J. Nutr.*, 114:2193-2200, 1984.
- Lee C.J. & B.F. Chow. Protein metabolism in the offspring on the underfed mother rats. *J. Nutr.*, 87:439-443, 1965.
- Chun-Ja M., N.L. Gelardi & O. William. Growth and cellular composition in rats with intrauterine growth retardation effects of postnatal nutrition. *J. Nutr.* 117:1463-1468, 1987.
- Firmsansyah A., L. Suwandito, D. Penn & E. Lebenthal. Biochemical and morphological changes in the digestive tract of rats after prenatal and postnatal malnutrition. *Am J Clin. Nutr.*, 50:22261-8, 1989.
- Itzhaki R. & A.M. Gill. A microbiuret method for estimating proteins. *Ann Biochem J.*, 224:681-683, 1984.
- Schneider W.C. Method for extraction of nucleic acids. *J. Biol. Chem.*, 161:293-298, 1945.
- Giles W.K. & A. Myers. An improved diphenylamine method for the estimation of deoxyribonucleic acid. *Nature (London)*, 206:93, 1965.
- Munro H.N. & A. Fleck. The determination of nucleic acids. *Methods Biochem Anal.*, 14:114-176, 1956.
- Villalpando S., De Santiago S. & S. Flores-Huerta. Maternal nutritional status and milk volume. Is there a cause-effect relationship? *Arch. Lat. Nutr.*, 3:293-303, 1991.
- Lederman S.A. & P. Rosso. Effects of food restriction on fetal and placental growth and maternal body composition. *Growth* 44:77-88, 1980.
- Hastings-Robertss, M.M. & F.J. Zeman. Effects of protein deficiency, paifeeding or diet supplementation on maternal, fetal and placental growth in rats. *J Nutr.*, 1107:973-982, 1977.
- De Santiago S., H. Hernández, S. Flores-Huerta, S. & S. Villalpando. Changes in the composition of mammary tissue, liver and muscle of lactating and weaning rats. *J. Nutr.*, 1221:37-4333, 1991.
- Ozelci A., D.L. Romsos & G.A. Leveille. Influence of initial food restriction on subsequent body weight gain and body fat accumulation in rats. *J. Nutr.*, 108:1724-1732, 1978.
- Rasmunssen K.M. & K.L. Fischbeck. Effect of repeat reproductive cycles on pregnancy outcome in «ad libitum» fed and chronically food-restricted rats. *J. Nutr.*, 117:1959-1966, 1987.
- Mattheij S.A.M., E.F.M. Gruisen & J.J.M. The suckling induced rise of plasma prolactin in lactating rats: Its dependance on stage of lactation and litter size. *Hormone Res.*, 11:3225-336, 1979.

Recibido: 26-10-1993

Aceptado: 07-03-1994

Efecto de la suplementación dietética con aceite de soya o marino en la reversibilidad de la deficiencia de ácido docosahexaenoico (22:6w3) en el cerebro y eritrocitos de ratas¹

Julia Araya^{*}, Paz Robert^{**} y Cecilia Barriga^{**}

RESUMEN. Se evalúa la capacidad potencial de un suplemento dietético, de aceite de soya, fuente de ácido alfa linoléico (18:3w3:AL), o aceite marino, fuente de ácido docosahexaenoico (22:6w3; DHA), en la dieta de la nodriza, en la corrección de los niveles disminuidos de DHA, en los fosfolípidos de cerebro y glóbulos rojos de la progenie de ratas deficientes en omega 3.

Ratas preñadas deficientes en ácidos grasos omega 3, se dividen al momento del parto, en tres grupos. Un grupo sigue consumiendo, durante la lactancia la dieta deficiente en omega 3, los otros dos grupos, se alimentan con dietas suplementadas con aceite de soya o marino, durante el mismo período. Los resultados informan que, un suplemento de 114 mg. de DHA, por 100 gramos en la dieta materna, logró aumentar el contenido de DHA, en la leche, lo que permitió normalizar los niveles de DHA, en el cerebro y glóbulos rojos de sus crías a los 18 días de edad post natal. Un suplemento de 700 mg. de AL por 100 gramos de dieta, no aumentó, el contenido de DHA ni en la leche ni en los glóbulos rojos, pero aumentó el DHA en el cerebro, a la mitad del valor del control.

Se postula una capacidad limitada del neonato, para sintetizar DHA a partir de AL, corroborando la esencialidad del DHA preformada, en esta etapa de la vida, por lo menos en la rata.

SUMMARY. Reversal of brain and erythrocytes omega-3 docosahexanoic acid deficiency in the suckling ratas by maternal dietary supplement containing either soybean oil or fish oil. This study was undertaken, to evaluate the effects of dietary supplements containing either soybean oil (19:3w3; ALA), or fish oil (22:6w3; DHA), added to the lactating rat dam diet, on the levels of DHA in brain and erythrocytes of DHA deficient pups. Pregnant rats fed omega 3 deficient diets were divided at parturition into three groups. One group was kept on the same diet fed during pregnancy. The two remaining groups received the above mentioned omega 3 supplements. These feeding regimens were maintained during 18 days. Supplementation of diet with 114 mg DHA/100g diet, increased significantly the concentration of DHA in brain and erythrocytes of the suckling rats. In contrast, the effects of the supplementation with ALA (700 mg/100g diet), were limited to the increase of DHA content in the brain. This increase however, was partial, reaching only 50% of the normal. Results suggest that newborn rat has a limited capacity to convert DHA from ALA, becoming dependent of preformed DHA supply to cover DHA requirements at the cellular level.

INTRODUCCION

La esencialidad nutricional del ácido graso, linoleico (18:2w6:L), fue demostrado en ratas, por George and Mildred Burr en 1929 (1). Se ha documentado que L es el precursor, del

ácido araquidónico (20:4w6;AA), que es sustrato esencial para la síntesis de eicosaenoides, de la serie omega 6 (w6), (2). AL, que es un ácido graso omega 3 (w3), no fue considerado un ácido graso esencial (AGE), para la rata y humanos porque, él no hizo desaparecer todos los síntomas, por deficiencia de AGE, y porque su deficiencia en la dieta, no generó el clásico síndrome de deficiencia de AGE (3,4).

Durante los últimos 15 años, se han acumulado bastantes evidencias, sobre la esencialidad nutricional de los omega 3; esto incluye no sólo al AL, sino además a sus derivados de cadena más larga y más poliinsaturados: el ácido docosahexaenoico (22:5w6; DHA) y eicosapentaenoico

¹ Financiado parcialmente por Proyecto FONDECYT N° 1014-92.

^{*} Dpto. de Nutrición. Profesor Titular. Facultad de Medicina. Universidad de Chile.

^{**} Dpto. de Química de los Alimentos. Ayudante Primero, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas Universidad de Chile.

^{**} Bioquímico. Laboratorio de Lípidos, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

(20:5w3; EPA), este último precursor inmediato de eicosaenoides de la serie w3. La corteza cerebral y la retina son ricos en DHA, constituyendo éste, un tercio de los ácidos grasos en los fosfolípidos de la materia gris (5). Una deficiencia específica de omega 3 en mamíferos, ha sido difícil de definir y detectar, sin embargo se ha demostrado que, las ratas deficientes en DHA, muestran una menor capacidad exploratoria, una pobre capacidad para discriminar y una agudez visual disminuida (6,7).

En estudios anteriores, hemos comunicado que dietas deficientes en ácidos grasos omega 3 y altas en ácidos grasos omega 6, que han sido consumidas por ratas hembras durante 3 generaciones sucesivas, disminuyeron el nivel de DHA en tejidos y órganos fetales y en la leche (9), indujeron una alta mortalidad perinatal, en las crías (10), y provocaron alteraciones estructurales degenerativas en las capas externas de la retina (11).

Connor W y cols. (12), concluyen que la corteza cerebral de monos, con deficiencia experimental del DHA, tiene una gran capacidad bioquímica para corregir dicha deficiencia, a través de suplementos dietéticos de aceites de pescado; y que el recambio del DHA en cerebro, eritrocitos y plasma, son comparables.

El propósito de este estudio, fue medir la capacidad potencial, de los aceites de soya o marino, incorporados como suplementos en la dieta materna, para compensar la deficiencia de DHA, en los cerebros y eritrocitos de crías lactantes, las que han desarrollado deficiencia de DHA, durante su desarrollo intrauterino. Además, conocer si los cambios del DHA en la corteza cerebral se ven reflejados en la composición de los ácidos grasos de los fosfolípidos del glóbulo rojo.

MATERIAL Y METODOS

Dietas

La composición de los ácidos grasos de los aceites usados como suplementos y el contenido porcentual de los ingredientes con que se prepararon las dietas experimentales, se exponen, en Tablas 1 y 2 respectivamente.

TABLA 1
COMPOSICION PORCENTUAL DE LOS ESTERES METILICOS DE LOS ACIDOS GRASOS DE ACEITE DE SOYA GIRASOL Y PESCADO

ACIDOS GRASOS	A C E I T E S		
	SOYA Porcentaje	GIRASOL Esteres metílicos	PESCADO Acidos grasos
14:0	0.2	0.2	5.0
16:0	11.5	6.2	19.1
18:0	3.9	5.3	5.5
20:0	0.5	0.3	0.2
Otros	0.4	0.5	1.6
SUM SAT	16.5	12.5	31.4
16:1	0.1	Tr	4.8
18:1	20.1	15.2	21.1
20:1			2.8
Otros			0.3
SUM MONO	20.2	15.2	29.0
18:2 w 6	55.9	72.2	1.4
20:4 w 6			3.9
22: 4 w 6			1.3
22:5 w 6			0.8
Otros			4.4
SUM w 6	55.9	72.2	11.5
18:3 w 3	7.4	0.1	0.9
20:5 w 3			7.8
22:5 w 3			2.5
22:6 w 3			16.3
Otros			0.6
SUM w3	7.4	0.1	28.1
Tr= Trazas			

TABLA 2
COMPOSICION DE LAS DIETAS EXPERIMENTALES

INGREDIENTES g/kg dieta	D I E T A S		
	SOYA*	GIRASOL**	PESCADO°
Caseína (a)	200	200	200
DL Metionina	1.6	1.6	1.6
Celulosa	20	20	20
Almidón maíz	478.4	478.4	478.4
Chuíño	150	150	150
Aceite soya	100	0	0
Aceite girasol	0	100	94.5
Aceite pescado	0	0	5.5
Mezcla mineral (b)	40	40	40
Mezcla vitaminas (c)	10	10	10
Relación w6/w3	7.5	72.2	44.7

* *Glycina hispida*

** *Heliantus annus*

(a) Caseína delipidada

(b) Composición de las mezclas de minerales (g/kg mezcla)

(c) Composición de la mezcla de vitaminas liposolubles e hidrosolubles (g/300g mezcla).

(b y c en referencia 10).

Animales y diseño experimental

Sesenta ratas hembras, con deficiencia dietética generacional (3ra. generación) en ácido alfa linolénico (18:3w3), lograda según un diseño experimental previamente descrito (10); fueron cruzadas a los 60 días de edad con machos controles. Las ratas preñadas con deficiencia de omega 3, se dividieron en 4 grupos de 12 ratas cada uno. El grupo Girasol (G1), siguió alimentándose durante la preñez y la lactancia con la dieta deficiente en omega 3. El grupo 2 (G2) se realimentó, durante la lactancia con una dieta preparada con aceite de soya que proporcionaba el ácido graso omega 3 como AL. El grupo 3 se realimentó, durante la lactancia, con una dieta preparada con una mezcla de aceite de girasol y aceite de pescado purificado, que aportaba DHA preformado como fuente de omega 3. El grupo 4, estuvo constituido, por 12 ratas preñadas, controles con 60 días de edad, las que habían sido alimentadas durante 3 generaciones sucesivas, con una dieta que contenía aceite de soya como fuente de lípidos, este grupo siguió alimentándose durante la lactancia con la misma dieta balanceada la que proporcionaba amplias cantidades de omega 3 como AL.

Las ratas preñadas de los cuatro grupos fueron ubicadas en jaulas metálicas, individuales, y se mantuvieron a una temperatura ambiente de 25°C y con una humedad de 75% con 12 horas de luz y 12 de oscuridad. Las nodrizas, tuvieron libre acceso a la dieta asignada y agua de bebida.

A los 18 días de edad postnatal las crías machos de todos los grupos, fueron sacrificadas por decapitación para obtener sangre y cerebros. La sangre se recibió en una solución de la sal sódica del ácido etilendiaminotetracético (EDTA) al 5% a pH 7.0. El cerebro se liofilizó, inmediatamente de ser extraído para su posterior análisis.

Las crías hembras de los 4 grupos, con 18 días de edad postnatal fueron ayunadas, separándolas de sus madres por 8 horas, para luego reincorporarlas, a las jaulas de sus respectivas nodrizas, y ser amamantadas. Después de 15 minutos de amamantamiento se sacrificaron para obtener leche de sus estómagos. La leche fue liofilizada de inmediato, para ser analizada posteriormente.

Extracción de lípidos y análisis de su composición

Acidos grasos de fosfolípidos de glóbulos rojos

La sangre con anticoagulante, recién obtenida, se centrifugó a 100 rpm, durante 10 minutos, para separar los glóbulos rojos; estos se lavaron 3 veces con una solución de NaCl al 9%. Se centrifugaron 3 veces, las dos primeras, a 1600 rpm por 10 minutos, la tercera centrifugación se realizó a 3200 rpm. Se extrajeron los lípidos de 0.4 ml de glóbulos rojos empacados por el método de Bligh y Dyer (13). Se separaron los fosfolípidos del resto de los lípidos por cromatografía en capa fina (14). La mancha correspondiente a los fosfolípidos se raspó y transfirió a un tubo con tapa de teflón, resuspendido en 1 ml de benceno

y metilado durante toda la noche con 2 ml de metanol en HCl 6N. Se usó, durante todo el proceso una cantidad conocida de dipentadecanoil fosfatidilcolina, como estándar interno. La mezcla se neutralizó con NaHCO₃ al 6% y se extrajo 2 veces, con 2 ml de n-hexano. Después de la evaporación del solvente, los ésteres metílicos de los ácidos grasos, fueron resuspendidos en cloroformo y una alícuota, se inyectó en el cromatógrafo gas-líquido (Carlo Erba GC 6000), equipado con una columna capilar de 50 metros de largo y 0.323 mm de diámetro (silica fixed BPX-70). Se usó helio como gas transportador, a una velocidad de 35 ml por segundo.

La elución se obtuvo con un programa, que comenzaba a 110° C durante 1 minuto, incrementando a 5° C cada minuto, hasta alcanzar los 230 °C. La temperatura del inyector y detector fue de 260 °C respectivamente. Para establecer los tiempos de retención de cada ácido graso, éstos se compararon con el cromatograma de una mezcla de ácidos grasos auténticos, realizado bajo las mismas condiciones de las muestras.

Acidos grasos en lípidos de leche y cerebros

La humedad del material liofilizado se ajustó a un 80% con agua. Una vez reconstituida la humedad a la que tenía el tejido fresco, se extrajeron los lípidos y se analizó la composición de los ácidos grasos de los lípidos de la leche y fosfolípidos de cerebro por un procedimiento similar al empleado para el análisis de los lípidos de glóbulos rojos.

Estadística

Los resultados se presentan como promedios \pm desviación estándar. La diferencia entre el control y los grupos experimentales se analizó por el test «t» de Student. Las comparaciones de las relaciones, entre los tratamientos y el contenido de los diferentes ácidos grasos, se realizó por análisis de varianza una vía. Todos los análisis estadísticos, se realizaron en un computador Epson, usando el software Statistical Package for Social Sciences (SPSSx). Se consideró $p < 0.05$, como indicador de diferencia significativa.

RESULTADOS

Parámetros calculados

Con el propósito de relacionar los cambios, en la composición de los ácidos grasos, que afectan las propiedades físicas, de los fosfolípidos, y que contribuyen a la «fluidez», de la membrana; se calcularon los índices: punto de fusión promedio (PFP), y largo promedio de la cadena acilo (LCA). El cálculo del PFP, toma en cuenta a todos los ácidos grasos contenidos, en la mezcla de fosfolípidos, y es el resultado de la suma obtenida de los productos, después de multiplicar, la fracción molar de cada ácido graso, por su respectivo punto de fusión (15). El LCA, representa el promedio de la suma, de los resultados obtenidos, después de multiplicar, la fracción molar de cada ácido graso, en la mezcla de fosfolípidos, por el largo de su cadena (15).

El resultado calculado para el PFP, informa que el PFP del cerebro del grupo desnutrido, fue de 14.27 ± 1.58 °C, significativamente menor ($p < 0.05$), que el grupo control 22.20 ± 4.50 °C. Sólo el grupo, cuya madre consumió la dieta suplementada con aceite marino, mostró valores similares al control, 21.04 ± 2.97 °C; y diferentes del deficiente ($p < 0.05$), el suplementado con aceite de soya, mantuvo el valor del grupo deficiente, 14.57 ± 2.71 °C.

El resultado calculado, en relación al LCA, da cuenta que en el grupo deficiente, fue de 17.48 ± 0.36 °C, el del control 18.97 ± 0.58 °C; ($p < 0.05$), el grupo suplementado con aceite de soya fue de 16.95 ± 0.38 °C; similar al deficiente y el grupo suplementado con aceite marino, el resultado fue de 18.20 ± 1.23 °C; diferente de los grupos deficientes y soya ($p < 0.05$).

La Tabla 3, presenta los resultados de la composición de los ácidos grasos de los fosfolípidos, de cerebros de ratas, con 18 días de edad, crías de nodrizas, deficientes en ácidos grasos omega 3, de controles y de madres alimentadas, durante la lactancia con dietas, suplementadas con aceite de soya o marino. Puede observarse que, la suma de los ácidos grasos saturados, fue similar en los grupos deficientes y suplementados, pero significativamente menor, que el contenido de el grupo control ($p < 0.05$). El nivel de AA, en los fosfolípidos de cerebro, fue similar en los cuatro grupos. El contenido del ácido docosapentaenoico (22:5w6), de la serie w6, en el grupo deficiente, se encontró significativamente aumentado ($p < 0.05$), con respecto al control, que no lo contenía, y a los grupos suplementados. El DHA, se encontró significativamente disminuido, en el grupo deficiente comparado, con los otros tres grupos ($p < 0.05$). La suma de los ácidos grasos poliinsaturados, fue similar en todos los grupos.

TABLA 3
COMPOSICION DE LOS ACIDOS GRASOS DE LOS FOSFOLIPIDOS DE CEREBROS DE RATAS CON 18 DIAS DE EDAD, CRIAS DE MADRES DEFICIENTES EN OMEGA 3 Y SUPLEMENTADAS DURANTE LA LACTANCIA CON ACEITE DE SOYA O MARINO

Acidos Grasos	DEFICIENTE	CONTROL	SUPLEMENTADOS		P
	Porcentaje de los esteres metílicos				
			SOYA	MARINO	
18:0	17.08±2.26	18.42±2.18	17.65±1.10	18.77±0.46	NS
Σ0	a45.62±2.53	b57.11±4.38	a49.81±3.19	a41.09±1.68	a vs b
18:1w9	19.09±0.52	19.15±1.85	15.46±1.94	16.10±1.98	NS
Σ1	a22.65±0.75	19.53±1.94	b18.13±2.73	19.79±1.71	a vs b
20:4w6	8.99±1.44	8.28±2.73	9.70±0.95	9.44±1.48	NS
22:4w6	a4.19±0.46	a3.42±0.84	a3.86±0.32	b1.53±0.37	a vs b
22:5w6	a6.81±0.93	c0.00±0.0	b1.01±0.24	b0.78±0.61	a vs b
Σw6*	a23.18±1.61	b12.13±2.83	c30.35±1.87	b13.42±2.15	a vs b vs c
22:6w3	a1.86±0.72	b8.14±1.23	c4.60±0.49	b6.59±1.37	a vs b vs c
Σw3**	a4.66±1.02	b9.18±0.88	b13.45±2.20	b10.42±2.93	a vs b
Σw6+w3***	24.64±3.27	20.67±3.66	21.61±3.30	22.15±3.64	NS

Valores promedios ± desviación estándar de 8 diferentes cerebros por grupo.

P= Nivel de significancia <0.05 intergrupo, calculado usando análisis de varianza ANOVA

* Suma de ácidos grasos omega 6

** Suma de ácidos grasos omega 3

*** Suma de ácidos grasos omega 6 + omega 3 altamente poliinsaturados (=> 20 C)

La composición de los ácidos grasos de los fosfolípidos de glóbulos rojos, de ratas con 18 días de edad, crías de nodrizas, deficientes en ácidos grasos omega 3, controles y deficientes realimentadas, con dietas suplementadas con aceite de soya o marino; se exhibe en la Tabla 4. Se puede advertir que, la suma de ácidos grasos saturados, fue similar en los grupos deficientes y control, pero significativamente mayor, que en los grupos suplementados ($p < 0.05$). Destaca el aumento del 22:5w6, en los glóbulos rojos del grupo deficiente, con respecto al control

($p < 0.05$), se observa además una disminución de este ácido graso, después de suplementar con aceite marino, pero no en el grupo suplementado con soya. El DHA, se encontró significativamente disminuído, en el grupo deficiente, con respecto a los grupos control, y suplementado con aceite marino ($p < 0.05$). La suma de los ácidos grasos poliinsaturados, y el AA, no se modificó por la deficiencia de omega 3, sin embargo los poliinsaturados aumentaron, durante la suplementación de las dietas con ambos aceites.

TABLA 4
COMPOSICION DE LOS ACIDOS GRASOS DE LOS FOSFOLIPIDOS DE ERITROCITO DE RATAS CON 18 DÍAS DE EDAD, CRIAS DE MADRES DEFICIENTES EN OMEGA 3 Y SUPLEMENTADAS DURANTE LA LACTANCIA CON ACEITE DE SOYA O MARINO

Acidos Grasos	DEFICIENTE	CONTROL	SUPLEMENTADOS		P
			SOYA	MARINO	
Porcentaje de los esteres metílicos					
18:0	15.89±3.14	13.32±3.23	12.05±0.05	12.83±2.94	NS
Σ0	a50.48±4.36	a49.30±7.37	b39.70±2.68	a42.50±3.05	a vs b
18:1w9	a5.76±0.81	a6.04±1.38	a5.03±0.11	b4.38±0.17	a vs b
Σ1	a5.93±0.82	a6.29±1.36	a5.16±0.10	b4.54±0.17	a vs b
20:4w6	a16.17±3.09	a16.43±3.23	b20.92±1.10	b22.72±0.99	a vs b
22:4w6	a1.00±0.51	a1.22±0.96	b3.41±0.09	b2.58±0.21	a vs b
22:5w6	a3.12±0.25	b0.69±0.14	a3.12±0.02	b1.94±0.18	a vs b
Σw6*	34.87±8.11	32.06±7.25	40.96±7.91	40.76±8.78	NS
22:6w3	a0.16±0.06	b4.29±0.64	c0.44±0.09	b3.84±0.37	vs c
Σw3**	a2.10±1.25	b7.02±1.87	c0.92±0.26	b4.68±1.99	a vs b
Σw6+w3***	a36.97±6.92	a39.68±6.01	b41.78±7.05	b45.43±7.48	vs c
					a vs b

Valores promedios ± desviación estándar de 8 muestras diferentes por grupo.

P= Nivel de significancia $p < 0.05$ intergrupos, calculado usando análisis de varianza ANOVA

* Suma de ácidos grasos omega 6

** Suma de ácidos grasos omega 3

*** Suma de ácidos grasos omega 6 + omega 3 altamente poliinsaturados (\Rightarrow 20 C).

El análisis de la composición de los ácidos grasos de los lípidos de leches de nodrizas deficientes en ácidos grasos omega 3, controles y realimentadas con dietas suplementadas con aceite de soya o marino se expone en Tabla 5. Se encontró que la suma de los ácidos grasos saturados está significativamente disminuída en el grupo deficiente con respecto al control y grupos suplementados ($p < 0.05$); los ácidos grasos monoinsaturados, no experimentaron cambios por la deficiencia de omega 3, pero aumentaron

significativamente en los grupos suplementados. La cantidad de AA, presente en las leches, fue comparable entre los grupos. El contenido de DHA, se encontró significativamente disminuído en los grupos, deficiente y suplementado con aceite de soya ($p < 0.05$), con respecto al control. La suma del contenido de ácidos grasos poliinsaturados, muestra la misma tendencia que, el contenido de omega 3.

TABLA 5
COMPOSICION DE LOS ACIDOS GRASOS DE LOS LIPIDOS DE LECHE DE RATAS NODRIZAS DEFICIENTES EN OMEGA 3 Y REALIMENTADAS CON DIETAS SUPLEMENTADAS CON ACEITE DE SOYA O MARINO

Acidos Grasos	DEFICIENTE		SUPLEMENTADOS		P
	DEFICIENTE	CONTROL	SOYA	MARINO	
Porcentaje de los esteres metilicos					
$\Sigma 0^*$	a439.83±2.01	b45.96±4.54	a43.77±0.55	a40.67±1.25	a vs b
$\Sigma 1^{**}$	a15.33±0.72	ab16.50±1.23	b17.52±0.16	c13.80±0.77	a vs b vs c
18:2w6	a41.95±1.62	b30.95±3.13	b32.46±1.69	a41.17±1.52	a vs b
20:4w6	1.36±0.33	1.20±0.40	1.00±0.03	1.15±0.30	a vs b vs c
$\Sigma w6^{***}$	a43.64±1.67	b32.56±3.44	b33.57±1.67	a38.58±4.91	a vs b
18:3w3	a0.55±0.12	b3.69±0.44	b3.93±0.25	a0.24±0.10	a vs b
20:5w3	a0.08±0.07	b1.37±0.36	c0.09±0.08	c0.32±0.02	a vs b vs c
22:6w3	a0.08±0.07	b0.47±0.10	a0.01±0.01	c1.44±0.40	a vs b
$\Sigma w3^{****}$	a0.72±0.17	b5.53±0.77	c4.03±0.31	d2.01±0.40	a vs b vs c vs d
$\Sigma w6+w3^{*****}$	a1.52±0.73	b3.04±0.47	a1.10±0.54	b2.91±0.58	a vs b

Valores promedios ± desviación estándar de 8 muestras diferentes por grupo.

P= Nivel de significancia <0.05 calculado usando análisis de varianza ANOVA

* Suma de ácidos grasos saturados

** Suma de ácidos grasos monoinsaturados

*** Suma de ácidos grasos omega 6

**** Suma de ácidos grasos omega 3

***** Suma de ácidos grasos omega 6 + omega 3 altamente poliinsaturados (=> 20 C)

DISCUSION

El cerebro contiene una alta proporción de lípidos, los cuales están presentes exclusivamente como componentes estructurales de membranas celulares (16). La alta concentración de ácidos grasos altamente poliinsaturados, como el AA y DHA, característica en este órgano, tiende a disminuir dramáticamente, cuando los mamíferos son alimentados, con dietas deficientes en ácidos grasos esenciales L y AL. Se ha documentado que, la disminución de AA y DHA en el cerebro, se asocia con una menor capacidad cognitiva y función visual (17).

En trabajos anteriores, los autores de esta investigación, han provocado una disminución significativa del DHA, pero no del AA, en el cerebro de neonatos, alimentados por madres deficientes en ácidos grasos omega 3 (9).

Los resultados de este estudio demuestran que, la deficiencia experimental de DHA, en glóbulos rojos y cerebro de la proge de ratas, se recuperó, superando el contenido del

grupo control, cuando la dieta de la nodriza se suplementó con aceite marino, que proporcionó 114 mg de DHA preformado, por 100 gramos de dieta. La suplementación de la dieta materna con aceite de soya, que aportaba 700 g. de AL, por 100 gramos de dieta, no normalizó los bajos niveles de DHA, de las crías.

Sinclair (18), ha demostrado que el DHA preformado, se incorpora en el cerebro durante el desarrollo, a una velocidad 10 veces mayor, que el AL, que es el precursor del DHA. Las variaciones en el contenido de DHA, de la leche de ratas, se vio reflejado en la composición de los fosfolípidos del cerebro y glóbulos rojos de las crías lactantes.

Con el propósito de estudiar, los requerimientos nutricionales de ácidos grasos esenciales, particularmente de omega 3 en lactantes, se ha comparado la composición de los ácidos grasos de la leche humana y de las fórmulas lácteas, con la composición de los ácidos grasos del plasma y glóbulos rojos de los niños que las consumen, encontrándose una

relación directa en estas comparaciones (16, 18, 19, 20).

En este estudio, un suplemento de 114 mg. de DHA por 100 gramos de dieta, que era proporcionado por el aceite marino, triplicó el valor del contenido de DHA, observado en la leche del grupo control y aumentó 18 veces el de la leche del grupo deficiente. Este aumento, normalizó el contenido de DHA, en cerebro y glóbulos rojos de las crías. El suplemento de 700 mg de AL, por 100 gramos de dieta, no modificó los bajos niveles de DHA en leche ni glóbulos rojos, sólo aumentó el DHA en cerebro, en la mitad del valor control. Estos resultados, concuerdan con estudios recientes, practicados en cerdos, los cuales informan, que la dieta de la nodriza enriquecida con DHA, aumenta el contenido de este ácido graso, en el plasma, glóbulo rojo e hígado del cerdito lactante, no se observó este resultado cuando la dieta de la nodriza se suplementó con AL (16,21).

Queda demostrado en este estudio, la capacidad limitada de la cría lactante, para sintetizar DHA a partir de LA, dejando establecida la esencialidad nutricional de DHA preformado en esta etapa de la vida, la que deberá ser proporcionada por la leche materna o por las fórmulas lácteas, que deberán ser enriquecidas con DHA.

El aporte de 114 mg de DHA por 100 gramos de dieta no disminuyó el contenido de AA en el cerebro y eritrocitos de las crías, ni en la leche de las nodrizas, indicando que esta cantidad podría ser razonable como suplemento, para recuperar la deficiencia. Aportes mayores, han disminuído significativamente el contenido de AA, en el plasma, plaqueta y eritrocitos de ratas amamantadas por madres que recibieron en su dieta 20% de los lípidos como aceite marino (22).

Un hallazgo que necesita mayor estudio, es lo observado con la fluidez de membrana de cerebro. En este estudio, se observó que la deficiencia de omega 3 indujo una caída del punto de fusión (PF), de la mezcla de ácidos grasos en los fosfolípidos, en 7.9 °C, a expensas del aumento de los omega 6. Queda por explicar el efecto funcional, en el cerebro, de esta caída del PF, en el grupo deficiente y en el suplementado con soya.

REFERENCIAS

- Burr G.O., Burr M.M. A new deficiency disease produced by the rigid exclusion of fat from the diet. *J. Biol. Chem.*, 82:345-367, 1929.
- Holman R.T. Biological activities of and requeriments for polyunsaturated acids. *Prog. Chem. Fats other Lipids.* 9:611-682, 1971.
- Tinoco J., Williams M.A., Hicenberg I., Lyman R.L. Evidence for nonessentiality of linolenic acid in the diet of the rat. *J. Nutr.* 1971; 101:937-946, 1971.
- Lands W.E.M. *Fish and Human Health* Orlando, Fla. Academic Press, Inc; 20-24, 1986.
- Tinoco J. Dietary requirements and functions of alphalinolenic acid in animal. *Prog. Lipid Res.* 21:1-45, 1982.
- Lamprey M.S., Walker B.L. A possible essential role for dietary linolenic acid in the development of young rat. *J. Nutr.* 1976; 106:86-93, 1976.
- Yamamoto N., Saitoh M., Moriuchi A., Nomura M., Okuyama H. Effect of dietary alpha-linolenate/linoleate balance on brain lipid compositions and learning ability. *J. Lipid Res.* 28:144-151. 1987.
- Neuringer M., Anderson G.J., Connor W.E. The essentiality of n3 fatty acids for the development and function of the retina and brain. *Annu. Res. Nutr.* 517-541, 1988.
- Araya J.A., Cagalj A.K. Reducción del ácido docosahexaenoico (DHA) 22:6w3 durante el período de rápido desarrollo del cerebro de ratas. Efecto de la dieta materna deficiente en ácido linolénico y alta en ácido linoleico. *Rev. Chil. Nutr.* 20:20-27; 1992.
- Araya J.A. y Cagalj A.K. Exclusión del ácido alfa linolénico de la dieta de la rata durante varias generaciones. I Efecto en la reproducción y crecimiento post natal. *Arch. Latinoam. Nutr.* 43 Nº 2: 123-131. 1993.
- Strozzi L., Muñoz C., Reyes C. y Araya J. Estudio microscópico y ultraestructural de bulbo ocular de ratas privadas experimentalmente por tres generaciones sucesivas de ácido alfa linolénico (omega 3). Parte 1. *Arch. Chil. Oftal.* XLIX: 74-85, 1992.
- Connor W.E., Neuringer M., Lin D. The incorporation of docosahexaenoic acid into the brain of monkeys deficient in omega-3 essential fatty acids *Clin. Res.* 33:598, 1985.
- Bligh E.G. and Dyer W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can J. Biochem Physiol.* 37: 911-917, 1979.
- Putnam J.C., Carlson S.E., De Voc P.W. and Barness L.A. The effect of variations in dietary fatty acids on the fatty acid composition of erythrocyte phosphatidylcholine and phosphatidylethanolamine in human infantil. *Am J Clin Nutr.* 36:106-114, 1982.
- Stubbs C.D. and Smith A.D. The modification of mammalian membrane polyunsaturated fatty acid composition in relation to membrane fluidity and function. *Biochim. Biophys. Acta.* 779: 80-137. 1984.
- Sastry P.S. Lipid of nervous tissue composition and metabolism. *Prog. Lipid Res.* 24: 69-176, 1991.
- Sinclair A.J. Incorporation of radioactive polyunsaturated fatty acid into liver and brain of developing rat. *Lipids.* 10:175-184. 1975.
- Sanders T.A.B. and Reddy S. The influence of a vegetarian diet on the fatty acid composition of human milk and the essential fatty acid status of the infant. *J. Pediatr.* 120:S71-S77. 1992.
- Jensen R.G., Lammi-Keefe C.J., Hendersen R.A. Bush V.J. and Ferris A.M. Effect of dietary intake of n-6 and n-3 fatty acids on the fatty acid composition of human milk in North America. *J. Pediatr.* 120: S87-S92. 1992.
- Putnam J.C., Carlson S.E., Devoe P.W. and Barnes L.A. The effect of variations in dietary fatty acids on the fatty acids composition of erythrocyte phosphatidylcholine and phosphatidylethanolamine in human infants. *Am J Clin Nutr.* 36: 106-114, 1982.
- Yeh Y.Y., Winters B.L. and Yeh S.M. Enrichment of (n-3) fatty acids of suckling rats by maternal dietary menhaden oil. *J Nutr.* 120:436-443. 1990.

Recibido: 10-12-1993

Aceptado: 18-07-1994

Estudio del comportamiento del hierro fijado sobre la caseína bovina y fosforilada luego de la hidrólisis producida por las proteasas digestivas

Ana Luisa Medina Gallardo

Escuela de Ingeniería Química, Facultad de Ingeniería.
Universidad de Los Andes Edo. Mérida, Venezuela

RESUMEN. Los grupos fosfatos de la caseína nativa y fosforilada tienen la propiedad de secuestrar el hierro. La fijación del hierro depende de la tasa de fosforilación de la caseína. Los grupos fosfatos naturalmente presentes o ligados químicamente, constituyen los sitios de fijación preferenciales del hierro y modifican la constante de afinidad de la caseína vis-a-vis del mineral. La fosforilación y la fijación del hierro conllevan a una baja en la sensibilidad de la caseína ante las proteasas digestivas. Cualquiera que sea la enzima, la hidrólisis de la caseína que fijó el hierro produce péptidos capaces de conservar el mineral bajo la forma ligada. Esta retención crece con el número de grupos fosfatos asociados a la caseína.

SUMMARY. Behavior of iron on bovine and phosphorylated casein after hydrolysis produced by digestive protease. The phosphate groups of the native and phosphorylated casein have the property of sequestering the iron. This metal fixation depends on the casein's degree of phosphorylation. The phosphate groups either, naturally present or chemically binded, are the preferential fixation sites for iron. They modify the affinity constant of the casein respect to iron. Both, phosphorylation and ironfixation influence negativily the caseins sensibility to digestive protease. Whichever the enzyme might be, the hydrolysis of the casein with fixed iron produces fixed iron peptides. It seems that iron retention is a function of the number of phosphate groups associated to casein.

INTRODUCCION

El promedio de proteínas por litro en una leche normal de bovino es de 30 a 35 gramos (1). Alrededor de 80% de estas proteínas son esencialmente caseínas, que se encuentran bajo la forma de complejos macromoleculares que contienen una parte mineral, conocidas bajo el nombre de micelas. Esta parte mineral puede existir bajo dos formas: 1) fijada sobre los grupos aniónicos, carboxílicos o fosfoserinas, 2) esencialmente bajo la forma de fosfato de calcio. Las caseínas presentes bajo esta forma, encierran hasta un 8% de constituyentes minerales.

Las caseínas son proteínas ácidas, ricas en ácido aspártico, y glutámico, de estructura desordenada debido a su riqueza en prolina, repartida a lo largo de la cadena proteica y a la escasez de residuos cisteínicos o puentes disulfuros; en razón a esta estructura muy particular, ellas son fácilmente aislables a pH 4,6. Se distinguen diferentes fracciones caseínicas, en las proporciones siguientes: α_1 : 45-55%, α_2 : 7-13%, β : 25-35%, κ : 8-15%, γ : 3-7%.

Las diferentes fracciones tienen un contenido de fósforo variable α_1 1%, β 0,5%, y κ 0,2%, se encuentran principalmente como monoésteres de fosfato de serina y de treonina. La caseína α_1 posee 8 grupos de fosfoserina, la caseína β posee 5, y la caseína κ no posee sino uno (2). Desde el punto de vista nutricional y tecnológico, estos grupos tienen una gran importancia debido a su capacidad para secuestrar el hierro (3,4,5). Diversos trabajos han mostrado que la fijación del hierro depende de la tasa de fosforilación de la caseína y que existe una competición entre el hierro y el calcio a nivel de los sitios de fijación (4,6,2). El hierro reacciona con los fosfatos de monoésteres ligados naturalmente a la serina y la fijación depende de la concentración en hierro, del pH, y de la fuerza iónica del medio. Por otro lado, numerosos estudios sobre la hidrólisis de la caseína por las enzimas digestivas han puesto en evidencia la formación de fosfopéptidos resistentes a la proteólisis (7,8). Una baja en la sensibilidad de la caseína fosforilada por las proteasas ha sido observado (9,10,11). Los fosfopéptidos son capaces de atravesar la barrera intestinal (12).

El hierro contenido en los alimentos es conocido por ser menos absorbido en el tracto gastrointestinal que las sales ferrosas. No solamente la forma bajo la cual el hierro es administrado es importante para la determinación de la proporción de hierro que puede ser absorbido, sino también la acción de las secreciones gástricas y pancreáticas, y la presencia de alimentos que contengan fosfatos y oxalatos han mostrado sus efectos particulares como inhibidores de la absorción del hierro (13).

Las numerosas propiedades funcionales y nutricionales de las proteínas se explican por los conocimientos y la comprensión de su estructura, propiedades físicas o mecánicas y las propiedades químicas.

Este trabajo tiene por objeto estudiar el comportamiento del hierro sobre la caseína nativa y fosforilada después de la acción de las proteasas digestivas.

La fosforilación química de la caseína por medio del oxiclورو de fósforo (POCl₃) asegura la fijación del fósforo sobre los grupos hidroxilos de la serina, de la treonina y de la tirosina (14,15,16,17). Las uniones N-fosfatos pueden formarse sobre los grupos ε-aminados de la lisina (18,11). Esta reacción permite aumentar la capacidad fijadora de hierro de la caseína, aumentando el número de fosfatos (4,6).

MATERIAL Y METODOS

Preparación de la caseína: A partir de leche fresca, se realizó una precipitación de la caseína a pH 4,6 con la ayuda de una solución normal de ácido clorhídrico. El precipitado es lavado varias veces y luego solubilizado con hidróxido de sodio normal. Su conservación se asegura por liofilización y empaque en sacos sellados herméticamente.

Fosforilación de la caseína: El oxiclورو de fósforo diluido al 20% (v/v) en tetra-cloruro de carbono es agregado a tasa constante, a una solución de caseína al 2% bajo fuerte agitación mecánica. La temperatura de la reacción es controlada y mantenida a 5°C. El pH es mantenido a 7 a través de un regulador que dispensa hidróxido de sodio 5N (15). La caseína así obtenida es purificada por decantación y centrifugación, y finalmente por cromatografía sobre Sefadex G50. La detección de la caseína se realiza a 280 nm.

La tasa de fosforilación corresponde a la relación fósforo/proteína. La proteína es determinada por el método de Kjeldahl y el fósforo por el método colorimétrico del molibdato de amonio a 760 nm (19).

Fijación del hierro: La fijación del hierro se realizó a través de la técnica de diálisis al equilibrio (2). La solución proteica al 2% es introducida en un tubo y dializada contra una solución de sulfato ferroso (Fe SO₄) en agua destilada a pH 5,2. La diálisis es efectuada bajo agitación a 4°C durante 18 horas.

Dosificación del hierro: La dosificación del hierro fue reali-

zada por espectrofotometría de absorción atómica.

Hidrólisis enzimática: Las medidas del grado de hidrólisis por potenciometría a pH constante fueron realizadas utilizando la tripsina, la pancreatina y la pepsina como enzimas proteolíticas. Las relaciones enzima/sustrato utilizadas fueron 1/25; 1/10; 1/12,5 respectivamente (20).

Las hidrólisis de las soluciones de caseína al 1%, fueron efectuadas durante 40 minutos en una célula termo-regulada a 37°C. El pH es mantenido constante gracias a un pH=Stat Tacusel. El volumen de reactivo a agregar es medido gracias a un registro que está unido a una bureta automática.

RESULTADO Y DISCUSION

1. Fijación del Hierro:

Influencia de la concentración del hierro

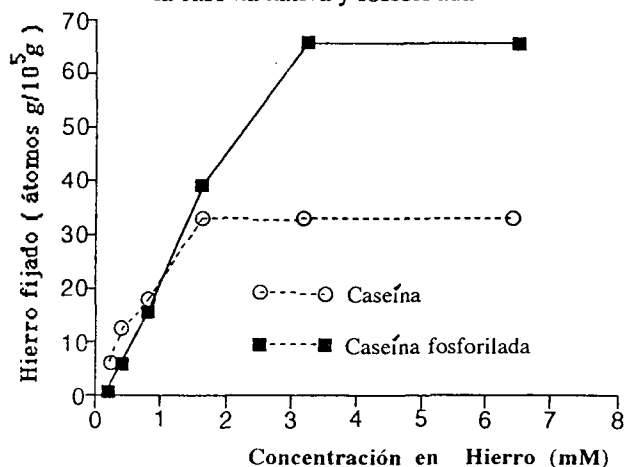
Curva de fijación

En este trabajo dos tipos de caseína fueron utilizadas: la caseína nativa que contiene 6 moles de fósforo por mol de caseína y la caseína fosforilada que contiene 21 mol de fósforo por mol de caseína (Cas P21).

Cualquiera que sea la caseína estudiada, la fijación del hierro aumenta con la concentración, hasta la saturación de todos los sitios. Por consiguiente observamos que la capacidad fijadora de la Cas P21 es más importante (Fig. N° 1), el número de grupos fosfatos fue más elevado.

FIGURA 1

Influencia de la concentración sobre la fijación de hierro de la caseína nativa y fosforilada

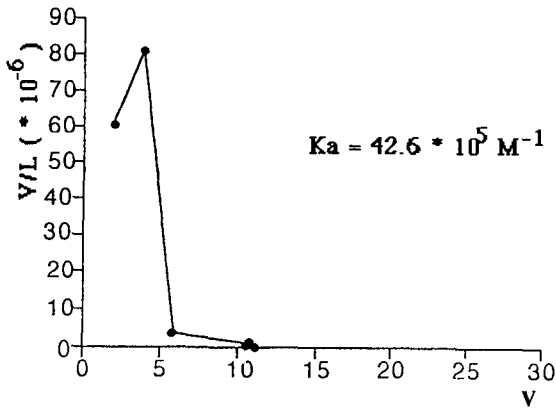


Representación de Scatchard

Esta representación es la recta $v/L=f(v)$ con v que corresponde al número medio de sitios fijados por mol de proteína al equilibrio y L la concentración del ligante libre al equilibrio. Ella permite determinar el número de sitios de fijación preferenciales n (intersección con las abscisas) y la constante de afinidad K_a (pendiente de la recta).

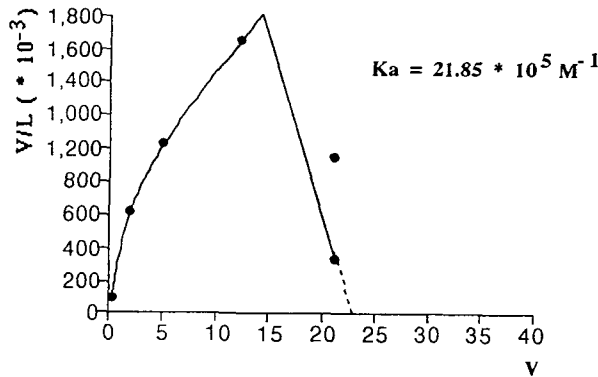
La caseína nativa presenta 6 sitios de fijación de fuerte afinidad por el hierro (Fig. N° 2) correspondiente a los 6 grupos de fosfoserina capaces de fijar cada uno un átomo. Estos resultados están de acuerdo con otros trabajos (21,4).

FIGURA 2
Afinidad de la caseína nativa por el hierro



La fosforilación de la caseína aumenta el número de sitios de fuerte afinidad de 6 a 21 fosfatos (Fig. N° 3). El mayor poder secuestrante de la caseína es debido a su tasa de fosforilación más elevada.

FIGURA 3
Afinidad de la caseína fosforilada por el hierro



2. Hidrólisis Enzimática:

Las hidrólisis enzimáticas fueron efectuadas con tres enzimas: tripsina, pancreatina y pepsina sobre las caseínas nativas y fosforiladas. Las Figuras 4, 5 y 6 muestran la evolución del grado de hidrólisis en función al tiempo así como la influencia de la fosforilación y de la fijación del hierro sobre la sensibilidad de la caseína a las proteasas. Constatamos sobre las figuras ya citadas, que el más alto grado de hidrólisis lo presenta la caseína nativa, cualquiera que sea la enzima empleada.

FIGURA 4
Influencia de la fosforilación y de la fijación del hierro sobre la sensibilidad de la caseína a la tripsina

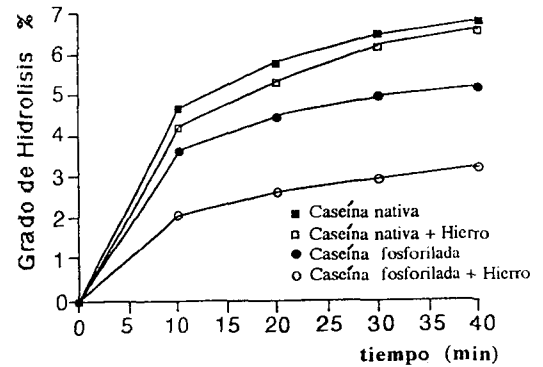


FIGURA 5
Influencia de la fosforilación y de la fijación del hierro sobre la sensibilidad de la caseína a la pancreatina

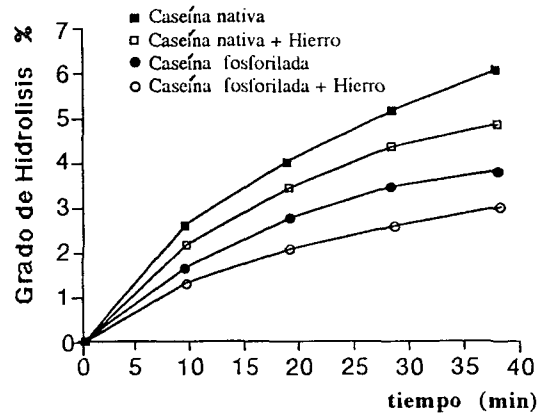
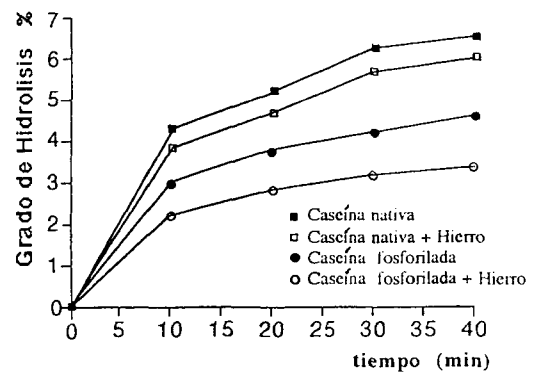


FIGURA 6
Influencia de la fosforilación y de la fijación del hierro sobre la sensibilidad de la caseína a la pepsina



El método del pH-stat (medida de la hidrólisis por potenciometría a pH constante) permite realizar el ataque enzimático a valores de pH 2 y 7 para ponerse artificialmente a los pH del estómago y del intestino durante la reacción. La digestibilidad es un importante factor que afecta la biodisponibilidad de los aminoácidos (22). Los test «in vitro» de digestibilidad son útiles en la evaluación de los diferentes tratamientos (calor, tratamientos con álcalis, ácidos) sobre la biodisponibilidad.

En el curso de la potenciometría, existe una buena correlación de la digestibilidad «in vitro e in vivo» después de la caída de pH durante los 10 minutos de proteólisis. La sensibilidad de las caseínas a las diferentes enzimas depende de la naturaleza de la enzima utilizada, así constatamos que la pancreatina que es una mezcla de endopeptidasas y exopeptidasas presenta la menor especificidad y por consiguiente el más alto grado de hidrólisis. La tripsina y la pepsina que son endopeptidasas son más específicas.

Efectos de la fosforilación:

Cualquiera que sea la naturaleza de la enzima, la caseína fosforilada es menos sensible a la hidrólisis. La fosforilación conlleva a una protección parcial de la caseína vis-a-vis de las enzimas proteolíticas al tener un porcentaje DH menor que la caseína nativa. Esto se podría deber al efecto estérico ocasionado por las moléculas de fósforo fijado. También se podría pensar en la presencia de cadenas de polifosfatos que impedirán el acceso de las enzimas a los sitios de ataque o al hecho que las enzimas no reconocerían sus sitios de acción, modificados por la fosforilación (lisina fosforilada, tirosina). La fosforilación produce un efecto inhibitorio no competitivo sobre la enzima, según se ha demostrado en otras investigaciones (11). De la misma manera otras modificaciones afectan la digestibilidad de la proteína, como la glicosilación (20) o la reducción de puentes disulfuros en las proteínas globulares compactas del lacto-suero bovino. Estos cambios reducen el grado inicial de digestibilidad (24).

Efectos de la fijación del hierro

Independientemente de la enzima y del tipo de caseína, la hidrólisis de la proteína que ha fijado hierro es más baja. Tomando en cuenta los resultados de este estudio, el hierro parece tener un efecto principalmente inhibitorio sobre las enzimas utilizadas durante la digestión «in vitro» de la caseína.

Otros trabajos han encontrado que los micro-elementos son factores que contribuyen a la reducción «in vitro» de la proteólisis (25). Se ha supuesto que el efecto del hierro no es solamente en relación con la bio-disponibilidad de los micro-elementos para formar complejos estables con las enzimas proteolíticas, sino también con su capacidad de reaccionar con los productos de descomposición de las proteínas. Cuando se hace la comparación con otros micro-elementos, el hierro forma uniones muy estables con las enzimas proteolíticas. Diferentes factores juegan sobre inhibición: concentración,

cantidad de otros micro-elementos, relación enzima/sustrato.

Antilla mostró que el efecto inhibitorio del hierro no sería debido al hierro fijado sobre la caseína, sino a un efecto directo sobre la tripsina (24). Otros estudios han puesto en evidencia el efecto inhibitorio del hierro sobre la proteólisis de la digestión «in vitro» de la pepsina, sobre la caseína, proteína de soya, hemoglobina. Cuando se compara con otros oligo-elementos, el hierro forma complejo muy estable con las enzimas proteolíticas.

La constante de estabilidad del hierro en diferentes compuestos es más elevada que aquellas de cualquier elemento.

CONCLUSION

Este trabajo muestra la importancia de los grupos fosfatos sobre la fijación del hierro en la caseína. La fosforilación aumenta el poder secuestrante de la proteína vis-a-vis del hierro. Las diferentes proteólisis han mostrado que la fosforilación y la fijación del hierro conlleva a una baja digestibilidad. Tomando en cuenta la importancia del hierro en la nutrición y los problemas en su asimilación, estudios «in vivo» serán necesarios para estudiar la bio-disponibilidad de los complejos péptidos-hierro liberados por la digestión de la caseína que ha fijado hierro.

En la medida que los productos lecheros representan un vehículo para suplementar en hierro las poblaciones anémicas, sería importante definir las condiciones bajo las cuales el hierro se utiliza mejor; ellas dependen entre otra, de la forma bajo la cual la caseína es introducida en el régimen (26). La experimentación «in vivo» en ratas se hace necesaria para cualquier utilización. En este caso la fosforilación sin solvente que es técnicamente posible (26) es preferible.

AGRADECIMIENTO

Al Dr. Mr. Denis Lorient. Jefe del Departamento de Bioquímica y Toxicología de Alimentos. Escuela Superior de Biología Aplicada a la Nutrición y a la Alimentación. Université de Bourgogne-Francia. Por su apoyo y facilidades para la realización de este trabajo.

REFERENCIAS

1. Cheftel J.C., Cuq J.L., Lorient D. Les protéines du lait. Lu: Protéines Alimentaires. Tech et Doc., Lavoisier, París, 1985.
2. Dickson I.R. et Perkins D.J. Studies on the interactions between purified bovine caseins and alkaline earth metal ions. *Biochem J.* 124:235-240, 1971.
3. Delmont R.I. et Dincer B. Binding added iron to various milk proteins. *J Dairy Sci.*, 59:1157-1159, 1976.
4. Brule G., Frauquant J. Interactions des protéines du lait et des oligoéléments. *Le Lait*, 62:323-331. 1982.
5. West D.W. Structure and function of the phosphorylated residues of casein. *J. Dairy Res.*, 53:333-352. 1986.

6. Causeret D. Influence de la phosphorylation de la caséine bovine sur sa capacité de fixation des éléments minéraux: cas du calcium magnésium fer et cuivre. Mémoire de fin d'études. ENS.BANA, Université de Bourgogne. 1986.
7. Mellander O. et Isaksson B. The physiological importance of the casein phosphopeptide calcium salts I: Intravenous and peroral calcium dosage in animal experiments. Acta Soc. Med. Upsal, 55:239-246. 1950.
8. Naito H., Kawakami A., Inuamura T. In vivo formation of phosphopeptide with calcium-binding property in the small intestinal tract of the rat fed on casein Agr. Biol. Chem, 36:409-413. 1972.
9. Fradel A. Optimisation de la phosphorylation de la caséine, Séparation des différentes fractions par chromatographie liquide. Influence de la phosphorylation sur la sensibilité aux protéases. DEA, ENS.BANA, Université de Bourgogne. 1986.
11. Duranton E. Etude de l'influence de la phosphorylation sur la sensibilité de la caséine aux protéases; nature des sites de fixation du phosphore. Mémoire de fin d'études, ENS.BANA, Université de Bourgogne. 1985.
12. Scheiki H. & Hemings W.A. I.R.C.S. Medical Science 9:1030-1033. 1981.
13. Peters T., Apt. L. et Ross J.F. Effects of phosphates upon iron absorption studied in normal human subjects and in an experimental model using dialysis. Gastroenterology, 61:315-322. 1971.
14. Ullman B. & Perlman R.I. Chemically phosphorylated protamine: a substrate for the study of phosphoprotein phosphatase activity. Bioch. Res. Com., 63:424-431. 1975.
15. Woo S.L., Creamer L.K. et Richardson T. Chemical phosphorylation of bovine beta-lactoglobulin. J Agric Food Chem, 30:65-70. 1986.
16. Matheis G. Penner M.H. Freney R.E. et Whitaker J.R. Phosphorylation of casein and lysozyme by phosphorus oxychloride. J Agric. Food Chem 31:379-387. 1983.
17. Matheis G. et Whitaker J.R. Chemical Phosphorylation of food proteins: an overview and a prospectus. J. Agr. Food Chem. 32:699-705. 1984.
18. Sung H. Chem H.J. Lin T.Y., Su J.Ch. Improvement of the functionalities of soy protein isolate through chemical phosphorylation. J. Food Sei. 48:716-718. 1983.
19. Delsal J.L. & Manhourii II. Dosages colorimétriques du phosphore, spectrométric dand l'ultraviolet. Bull. Soc. Chim. Biol., 40:1169-1179. 1958.
20. Courthaudon J.L. Communication personnelle. Laboratoire de Biochimie et Toxicologie Alimentaires, ENS,BANA, Université de Bourgogne. 1988.
21. Brule G. Les minéraux du lait. Revue Laitière Française, N°400. 1981.
22. Kakade M.L. Biochemical basis for the differences in plant protein utilization J. Agric. Food Chem 22:550-555. 1974.
23. Rothenbulla et Kinsella J.F. The pH-stat method for assessing protein digestibility ; an evaluation. J. Agric. Food Chem., 33: 433-438. 1985.
24. Antila P., Hague Z., Kinsella J.E. Assessment of the vitro digestibility of casein using the pH stat method: the effect of alkali heat treatments and iron addition. Melckwissenschaft, 42: 485-489. 1987.
25. Poiffait et J. Adrian. La spécificité de la caséine, 2^{ème} partie: son action sur l'efficacité des micro-nutriments. Med. et Nut. XXIII, 377-384. 1988.
26. Martin J.F. Influence des modifications chimiques de la caséine sur ses fonctionnelles: cas de la phosphorylation mémoire d'ingénieur ENS, BANA, propriétés. Université de Bourgogne. 1983.

Recibido: 07-07-1993

Aceptado: 02-03-1994

Deshidratación osmótica de manzana (Grany Smith) con diferentes soluciones osmóticas

Edmundo Mercado -Silva¹ y Daniel Vidal-Brotons²

RESUMEN. Se estudió el proceso de deshidratación osmótica de anillos de manzana sometidos a 40°, 50° y 60° C y a la acción de dos agentes osmóticos (sacarosa e hidrolizados de maíz) idénticos en grados Brix actividad de agua y viscosidad pero diferentes en su composición (contenido de polisacáridos). Los parámetros de pérdida de peso, contenido de agua, ganancia de sólidos y grados Brix; indicaron diferencias entre los medios estudiados, se perdió más agua y se ganaron menos sólidos con los hidrolizados de maíz en comparación con la sacarosa. Los polisacáridos que permanecen en los jarabes de maíz influyen en el proceso, limitando la entrada de solutos y facilitando la salida de agua.

SUMMARY. Osmotic dehydration of apple (Grany Smith) with diferents osmotic solutions. The process of osmotic dehydration in apple rings at 40°, 50° and 60° C in two osmotic agents were studied. The agents were similar in concentration, water activity and viscosity but differed in composition. The weigth loss, water content, solids uptake and Brix showed diferences in the medius studied. In syrup corn medium, the weight loss was higher and the solids uptake was lower than syrup sucrose. The polysacharides from the syrup corn lowered solutes uptake and the water out was facilitated.

INTRODUCCION

En la deshidratación osmótica de manzana, existen varios factores que controlan el proceso; la temperatura, la concentración, el tamaño de la muestra y la agitación del medio, son importantes (1) y (2). También se han evaluado diferentes agentes osmóticos y se ha indicado que la lactosa y la maltodextrina pueden reemplazar a la sacarosa, (3). Otros investigadores (4) estudiaron el empleo de jarabes obtenidos de la hidrólisis del almidón de maíz, y encontraron que un aumento de 42% al 50% en el contenido de sólidos del jarabe no mostró diferencias significativas en los productos. Otros autores han comparado los efectos de la reconcentración de jarabes de sacarosa y de alta fructosa y encontraron que la penetración del soluto en las capas externas de la fruta es similar para los dos jarabes mientras que en las internas, el jarabe de alta fructosa penetró hasta un 70% más que la

sacarosa (5). Se ha encontrado que la pérdida de agua y la actividad del agua del producto se ven afectadas por la ganancia de sólidos de la muestra y que esta ganancia depende de la composición química de los jarabes y de la forma de las muestras. En jarabes de almidón hidrolizado la ganancia de sólidos es menor lo cual se atribuye a la presencia de polisacáridos y a que la cantidad de agua eliminada fue máxima para la forma de anillos y menor en la forma de cubos(6). Sin embargo, en dicho trabajos las soluciones osmóticas no tenían la misma actividad de agua inicial (7). Hasta el momento no se han realizado estudios que comparen diferentes agentes osmóticos bajo criterios de similitud en grados Brix, actividad de agua y viscosidad. Este trabajo tiene como objetivo comparar dos agentes osmóticos similares en esos parámetros pero diferentes en su composición.

MATERIAL Y METODOS

Se trabajó con manzana «Grany Smith» procedente de la zona de Lerida España, recolectada en la cosecha de 1987 y 1988, con una fecha de corte única, de madurez uniforme de categoría I y de calibre 20. La manzana se almacenó a 3° C hasta que fue requerida para realizar las experiencias.

Como medios osmóticos se utilizaron una disolución de sacarosa de 65 grados Brix y una disolución acuosa obtenida

1 Facultad de Química, Universidad Autónoma de Querétaro. Centro Universitario Cerro de las Campanas s/n. Querétaro, Qro. CP 76010.

2 Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos. Departamento de Tecnología de Alimentos. Universidad Politécnica de Valencia. Camino de Vera s/n. 22014. Valencia, España.

con la mezcla de dos jarabes de almidón de maíz de distinto grado de hidrólisis (96 DE y 65 DE) cuyas marcas comerciales son Meliose 710B y Flolys E6576S respectivamente. En la Tabla 1 se muestra la composición de los jarabes utilizados. Con ellos se probaron distintas mezclas hasta encontrar aquella que mostrara las mismas características de concentración en grados Brix, actividad de agua y viscosidad que el jarabe de sacarosa. La mezcla que reunió las características de similitud con el jarabe de sacarosa fue aquella que tenía la proporción de 4.5:1.5:1 de jarabe Flolys: jarabe Meliose: agua respectivamente.

TABLA 1
COMPOSICION DE LOS JARABES DE ALMIDON
HIDROLIZADO DE MAIZ CON LOS CUALES SE
PREPARO EL JARABE UTILIZADO PARA LOS
EXPERIMENTOS DE DESHIDRATACION OSMOTICA

Parámetro	Meliose	Flolys
Dextrosa	50-54 ^a	28-32 ^a
Fructosa	41-44 ^a	10 máx. ^a
Otros sacáridos	5-7 ^a	—
Maltosa	—	26 - 32 ^a
Polisacáridos	diferencia ^a	diferencia ^f
Grados Brix	69.4 - 70.4	76.5 - 77.5
Actividad de agua	0.72	0.91
Viscosidad a 45° C	45 cp	150 cp

^a Los valores se expresan como % de la materia seca del jarabe.

La actividad de agua a 25° C que tenían los medios osmóticos antes de aplicarlos fue de 0.85; en tanto que la viscosidad a 40° C fue de 4.0 mP^s-1.

La deshidratación osmótica se llevó a cabo sobre anillos de manzana de 7 mm de espesor, 16 mm de diámetro interno y 65 mm de diámetro externo. Cada anillo fue pesado, medido su espesor y marcado individualmente. Los anillos fueron tratados con una disolución de ácido cítrico y ácido ascórbico al 1 y 0.2% respectivamente durante 10 minutos, después de este tiempo, las muestras fueron nuevamente pesadas y medidas en su espesor, colocadas en una malla de acero inoxidable de tal forma que se evitara el contacto por la superficie plana de las muestras.

Los jarabes se prepararon con agua destilada en una cantidad que permitió una proporción de jarabe a fruta de 20:1. Las experiencias de deshidratación osmótica se llevaron a cabo en un recipiente de acero inoxidable aislado térmicamente; ensayándose temperaturas de 40°, 50° y 60° C, que se mantenían mediante una bomba con termoregulador que también hacía recircular la disolución a un caudal de 3.52 l/min. Para permitir una mejor circulación del jarabe a través de los anillos, se empleó un agitador con impulsor plano de 65 mm de largo y 50 mm de ancho que giraba a 850 RPM.

Durante cada experiencia se extrajeron muestras por duplicado (dos anillos por muestra) cada quince minutos en la primera hora, cada treinta en la siguiente hora, cada hora durante las siguientes tres horas y finalmente otra muestra a las nueve horas de proceso. A cada tiempo, las muestras fueron escurridas y secadas superficialmente con papel absorbente, pesadas y medidas en su espesor. Posteriormente, las muestras fueron disgregadas para tomar diferentes submuestras para cada análisis considerado.

La humedad y los sólidos totales se determinaron siguiendo el método gravimétrico 20.013 (AOAC) (8) para muestras ricas en azúcar, se aplicó una temperatura de 75° C, bajo un vacío menor de 10mm de Hg durante un período de 8 horas. Los grados Brix se determinaron pesando una porción de muestra y homogenizándola con un peso conocido de agua en un pesasustancias, una gota del sobrenadante fue puesta en un refractómetro Carl Zeiss a 20° C calculándose posteriormente los sólidos solubles totales de la muestra original. La acidez titulable fue determinada por titulación con una disolución de hidróxido de sodio de normalidad conocida en una muestra disgregada en un volumen conocido de agua; expresando los resultados como ácido málico. La base de cálculo fue la materia seca inicial.

La pérdida de peso se calculó por diferencia de peso con las muestras antes del tratamiento, los resultados se expresaron en porcentaje. El contenido de agua, se calculó con la siguiente expresión:

$$CA = (Pht) (\%Ht) / (Msi)$$

Donde CA es el contenido de agua, en g de agua/g de Msi, Pht es el peso húmedo al tiempo t, %Ht es el porcentaje de humedad al tiempo t y Msi es el contenido de materia seca inicial. La ganancia de sólidos se calculó mediante la siguiente expresión:

$$GS = (Pst - Pso) / (Msi)$$

En esta expresión GS es la ganancia de sólidos, en g/g Msi, Pst es el peso de sólidos al tiempo t y Pso es el peso de sólidos iniciales. El contenido de sólidos solubles totales se calculó con la siguiente expresión:

$$CSST = (Pht) (0.01° B) / (Msi)$$

Donde °B son los grados Brix en cada momento.

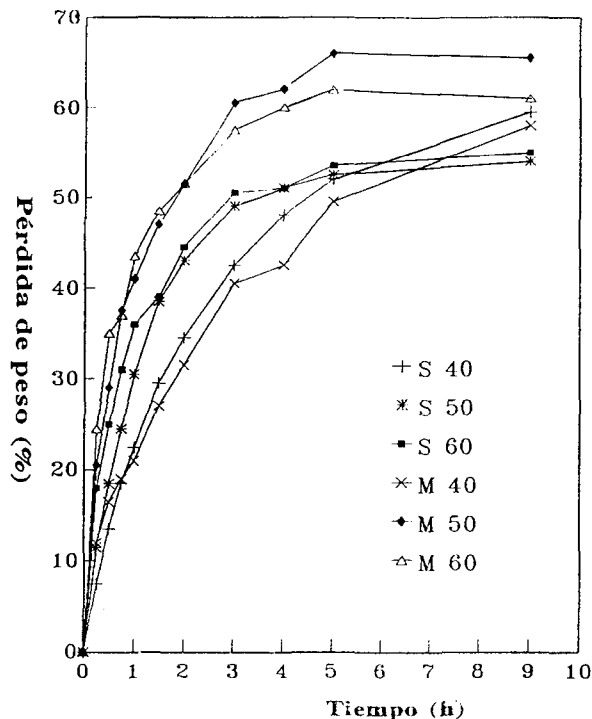
Los resultados de las evaluaciones fueron comparados estadísticamente a través de la linealización de los comportamientos, aplicando un test F de comparación de rectas y un posterior análisis de covarianza.

RESULTADOS Y DISCUSION

En la Figura 1, se muestran los comportamientos de la pérdida de peso para los dos jarabes a las distintas temperaturas estudiadas. El análisis estadístico de estas evoluciones indicó un efecto positivo de la temperatura al menos en las primeras etapas ya que también se observó que después de determinado tiempo los procesos tienden a invertirse. Este aspecto no ha sido reportado en la bibliografía. Este fenómeno puede ser debido a que las mayores temperaturas afectan la microestructura y facilitan la entrada de soluto. La comparación estadística entre los jarabes no mostró diferencias significativas a la temperatura de 40° C. A las temperaturas de 50° y 60° C se encontraron diferencias significativas entre los dos jarabes, perdiéndose más peso en las muestras tratadas con jarabes de maíz que las tratadas con jarabe de sacarosa. Este aspecto, también lo confirmó el parámetro de espesor el cual se redujo más en las muestras tratadas con los jarabes de hidrolizados de maíz.

FIGURA 1

Porcentaje de pérdida de peso de anillos de manzana en distintos jarabes a 40°, 50° y 60° C. (S es jarabe de sacarosa y M es jarabe de maíz)

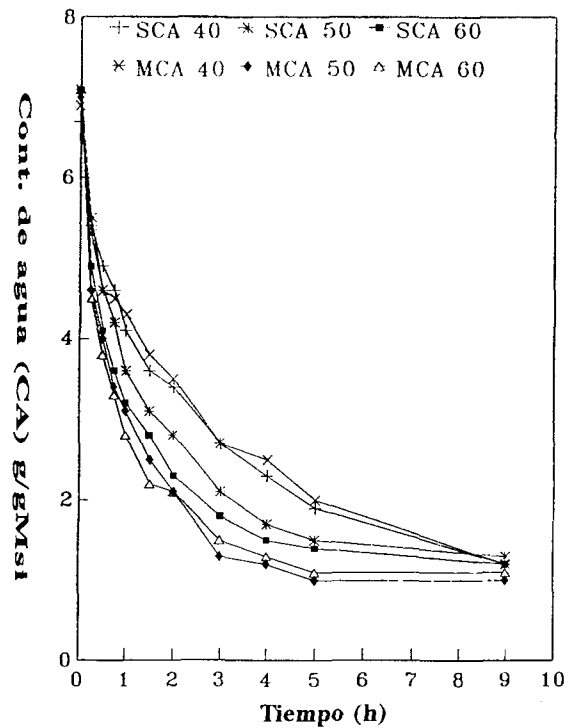


La Figura 2, muestra los comportamientos del contenido de agua; los análisis estadísticos indicaron, para el caso de la sacarosa, un efecto positivo de la temperatura. En el caso del jarabe de hidrolizados de maíz sólo se encontraron diferencias entre las temperaturas de 40° y 50° C pero no se hallaron diferencias entre las temperaturas de 50° y 60° C. La compa-

ración entre los jarabes no mostró diferencias entre las temperaturas de 40° C pero a las de 50° y 60° C las muestras tratadas con hidrolizados de maíz reducen más su contenido de agua que aquellas tratadas con sacarosa.

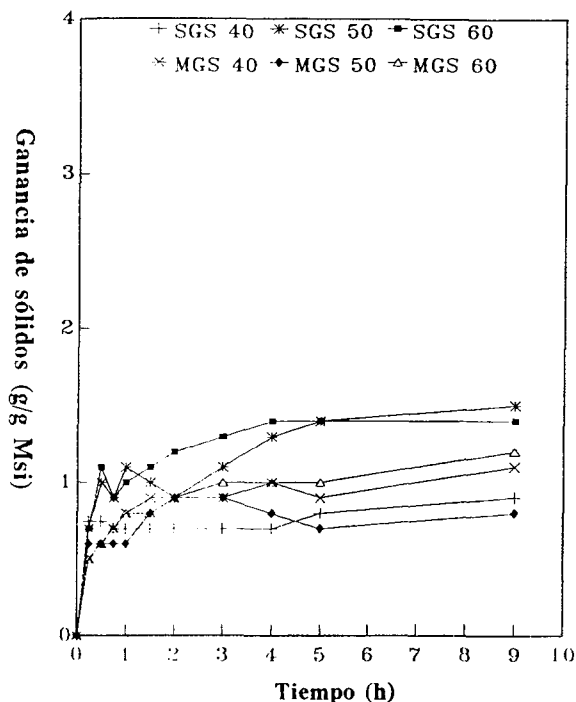
FIGURA 2

Variación del contenido de agua de anillos de manzana en jarabe de sacarosa (S) y jarabe de maíz a 40°, 50° y 60° C



La Figura 3 muestra los comportamientos de ganancia de sólidos. Debido al comportamiento particular de este parámetro, no fue posible linealizarlo y en su lugar se aplicó una prueba t de Student a cada tiempo de muestreo comparándose, dos a dos, los datos de cada tratamiento; asociándose las parejas de tal forma que permitía analizar el efecto de la temperatura para cada jarabe y el tipo de jarabe para cada temperatura. Los resultados del análisis indicaron que a las 0.25 h no se observa ninguna diferencia entre los tratamientos, a partir de las 0.5 h las muestras tratadas a 40° C ganan menos sólidos que las muestras tratadas a 50° y 60° C. Para las muestras tratadas con jarabe de hidrolizados de maíz no se detectaron efectos significativos de la temperatura a excepción del tiempo final en que se encuentra menor ganancia de sólidos a la temperatura de 50° C. La comparación entre los jarabes indicó que a 40° C la ganancia de sólidos es igual para los dos jarabes. Para las temperaturas de 50° y 60° C, el jarabe de hidrolizados de maíz muestra una menor ganancia de sólidos que las muestras tratadas con sacarosa.

FIGURA 3
Ganancia de sólido de anillos de manzana en distintos jarabes a 40°, 50° y 60° C (S es sacarosa y M es maíz)



El comportamiento de la evolución de los grados Brix en las muestras tratadas con jarabe de sacarosa mostró las mismas observaciones respecto de la temperatura; de igual forma se corroboraron los resultados para el caso del jarabe de maíz en el sentido de no haber diferencia entre las temperaturas de 50° y 60° C. La comparación entre los dos jarabes no mostró ninguna diferencia entre los mismos. El CSST muestra un comportamiento similar a la ganancia de sólidos.

Asociando las observaciones de las evoluciones de la ganancia de sólidos, del CSST, de los Brix y del contenido de agua parece claro que en la deshidratación osmótica de la manzana ocurre un fenómeno de concentración, en donde predomina el mecanismo de ósmosis sobre la difusión simple.

La ganancia de sólidos es mayor en las muestras tratadas con sacarosa. Esto indica que, a pesar de ser similar en los dos jarabes la evolución de los grados Brix, el mecanismo como transcurre es diferente. Las muestras tratadas con jarabe de maíz logran alcanzar los grados Brix mediante una mayor salida de agua (mayor concentración); las muestras tratadas con jarabe de sacarosa lo hacen además por una pequeña entrada de soluto, ya que la ganancia de sólidos es mayor en estas muestras.

Las diferencias encontradas entre los jarabes de hidrolizados de maíz y el jarabe de sacarosa, concuerdan con las observaciones de Moy et al (9), quien indicó que la ganancia de sólidos en mango es mayor para las frutas tratadas con sacarosa que aquellas tratadas con jarabe de maíz. Riba y Peri (10) señala-

ron que los azúcares de mayor peso molecular tienen menor penetración. Los resultados presentados también concuerdan con los de Abndreoti et al (11). De sus resultados, se deduce que el jarabe con polisacáridos limita la entrada de sólidos. No obstante en sus experiencias no controló la viscosidad ni la actividad de agua. También Lerici et al (6 y 12) anotaron que un jarabe con mayor contenido de polisacáridos provoca mayor pérdida de agua y menor ganancia de sólidos. Lenart y Flink (13) observó en muestras de papa, que las disoluciones de sacarosa hacen perder más agua y ganar más sólidos que las soluciones de cloruro de sodio a pesar de que la actividad del agua en el primer caso era mayor que en la solución de cloruro.

Lewicki et al (14), al añadir almidón o pectina a la disolución osmótica, observan una mayor salida de agua y una menor ganancia de soluto; demostrando que la composición de los jarabes afecta la evolución del proceso. El hecho de que la ganancia de sólidos tenga lugar en un tiempo muy corto demuestra que este fenómeno está circunscrito a la superficie. Si es así, es importante hacer notar que las características geométricas de la muestra alteran las cinéticas de los comportamientos y también las condiciones de equilibrio de las frutas tratadas, esto apoya las observaciones de Lerici et al (6) que observó que las menores pérdidas de agua se producen con la mínima relación área/espesor. Este hecho se atribuye a la reducción del coeficiente de difusión causado por una mayor ganancia de sólidos.

Las observaciones del presente trabajo permiten asegurar que la composición del jarabe y particularmente los polisacáridos influyen de una manera directa, disminuyendo la ganancia de sólidos en los productos.

REFERENCIAS

1. Ponting J.D., Water R., Forrey r. % Stanley, W.L. Osmotic dehydration of fruits. *Food Technology* 20 (1):125-128. 1966.
2. Karel M. Technology and application of new intermediate moisture foods. En: *Intermediate Moisture Foods*. R. Davies, G.G. Birch and K.J. Parker (Eds.) London. Applied Sci. Pub. Ltd. p. 76. 1976.
3. Hawkes J. & Flink J.M. Osmotic concentration of fruit slices prior to freeze dehydration. *Journal Food Process and Preservation* 2(4): 265-284. 1978.
4. Contreras J.E. & Smyrl, T.G. An evaluation of osmotic concentration of apple rings using corn syrup solids solution. *Can Ins., Food Sci. Technol. Journal* 14(4):310-314. 1981.
5. Bolin H.R., Huxoll C.C., Jackson A. & Ng K.C. Effect of osmotic agents and concentration on fruit quality. *Journal of Food Sci*: 48, 202-205. 1983.
6. Lerici C.r., Pinnavaia G., Dalla Rosa M. & Mastrocola D. Applicazione dell'osmosi diretta nella disidratazione della frutta. *Industrie Alimentari*. 184-190. Marzo 1983.
7. Lerici C.R., Pinnavaia G., Dalla Rosa M. & Bartolucci. Osmotic dehydration of fruit: influence of osmotic agents on drying behaviour and product quality. *Journal of Food Sci*. 50:1217-1219 y 1226. 1985.

8. Assosiation of Official Analytical Chemist. Official Methods of Analysis AOAC, 13th. Washington D.C. 1980.
9. Moy J.H., Lau N.R.H. & Dollar A.H. Effects of sucrose and acids on osmotic-dehydration of tropical fruits. *Journal of Food Processing and Preservation*. 2(2), 131-135. (Original no consultado compendiado en *Food Sci. Technol. Abstr.* 12(2):J0119. 1980.
10. Riva M. & Peri. C. Osmotic dehydration of grapes. *Procc. of 6th Int. Congress of Food Sci. and Technol.* 1, 179-180. 1983.
11. Andreotti R., Tomasicchio M. & Macchiavelli L. Disidratazione parziale della frutta per osmosi. *Industria conserva* 58:90-95. 1983.
12. Lerici C.R., Mastrocola D., Sensidoni A. & Dalla Rosa M. Osmotic concentration in food processing. En: *Preconcentration and Drying of Food Material*. S.Bruin (Ed) Amsterdam NL. Elsevier Sci. Pub. B.V. 1988.
13. Lenart A. & Flink J.M. Osmotic concentration of potato II. Spacial distribution of osmotic effect. *Journal Food Technol.* 19:69-89. 1984.
14. Lewicki P.P., Lenart A. & Pakula W. Influence of artificial semipermeable membrane on the process of osmotic dehydration of apples. *Annals of Warsaw Agri. Univ. SGGW-AR. Food Technol.* 16:17-24. 1984 (Original no consultado; compendiado en *Food Sci Technol. Abstr.* 16(03), J0046. 1987.

Recibido: 21-02-1992

Aceptado: 23-02-1994

Substitución del afrecho de trigo por harina de almendra desgrasada de palma aceitera rica fuente de fibra dietética en la elaboración de galletas y panes

Emperatriz Pacheco de Delahaye¹; María Cedres C.², Alemar Alvarado¹ y Ana Cioccia³

RESUMEN. Con la finalidad de sustituir la fibra dietética aportada por el afrecho de trigo en la elaboración de galletas y panes comerciales, se empleó harina de almendra desgrasada de palma aceitera (HADPA), la cual contiene 71% de fibra insoluble; 2,5% de fibra soluble y 19% de proteína. La HADPA fue añadida en la formulación de galletas de trigo en niveles de 3%, 4,5% y 6% y en los panes de trigo en 2,5% y 5%, tomándose como patrón de comparación galletas y panes comerciales con 6% y 5% de afrecho de trigo, respectivamente. Las galletas presentaron entre 6,8 a 10,1% de fibra dietética y los panes 5,1 a 7%. El contenido de almidón (42% a 50% en galletas y 34% a 36% en panes), disminuyó con respecto a la galleta y pan patrones. Los valores de PER, NPR, digestibilidad aparente y verdadera de la proteína de las galletas y panes con HADPA resultaron similares estadísticamente a la galleta y pan comerciales. La textura fue afectada cuando aumentaba el contenido de fibra dietética. Los resultados de la evaluación sensorial del panel no entrenado y el Maestro Galletero coincidieron en preferir las galletas con 3% de HADPA y los panes con 2,5% de HADPA. Durante 2 meses de almacenamiento a temperatura ambiente los reguladores del pH en las galletas no mostraron variaciones, actuando por igual en las galletas con afrecho de trigo. Los resultados indican que la harina de almendra desgrasada de palma aceitera puede ser empleada como fuente de fibra dietética hasta un nivel de 2,5% en panes y entre 3% y 4,5% en galletas, sin alteración de sus características nutricionales y sensoriales, al compararlos a las de galletas y pan comerciales que contienen afrecho de trigo.

SUMMARY. Wheat bran substitution by defatted palm meal flour in fiber rich cookies and bread elaboration. A flour from defatted oil palm kernels was used for substitution of wheat bran for the preparation of dietary fiber -rich wheat cookies and bread. The flour, containing 71% insoluble dietary fiber, 2% soluble dietary fiber and 19% protein (dry basis), was used at three different levels (3%, 4.5% or 6%) for the formulation of cookies, and at 2.5% and 5% for the preparation of bread. Commercial samples containing 6% and 5% wheat bran for the cookies and bread, respectively, were used as reference products. The dietary fiber content ranged between 6.8 and 10.1% for the experimental cookies and between 5.1 and 7% for the corresponding breads. Both types of products showed lower starch content (42-50% for cookies and 34-36% for breads) than the reference samples. Protein quality, as assessed by true and apparent digestibility, PER and NPR, was similar for experimental and reference cookies and breads. The final product texture (increased/decreased) as dietary fiber level increased. Flavor tests performed with both an untrained panel and the cookie senior chef indicated preference for the 3% palm flour cookies and the 2.5% flour bread. No change in pH regulating compounds was observed in either experimental or reference cookies, although a slight increase in humidity was recorded for the palm flour-based cookies. The experimental bread whiteness decreased as the palm flour level increased. Present results indicate that the defatted oil palm almond flour may be incorporated up to a 2.5% level in bread and to 3 - 4.5% in cookie-making, resulting in products with acceptable nutritional and flavor characteristics, similar to those exhibited by commercial wheat bran-enriched cookies and bread.

INTRODUCCION

Las harinas compuestas son generalmente mezclas de harina de trigo y harina de diferentes cereales, leguminosas, oleoginosas o tubérculos (1). Entre los productos mayormente suplementados se encuentran el pan, y otros productos horneados a base de trigo. En los países donde se consumen productos de maíz como arepas, tortillas y atoles, también se han desarrollado investigaciones para aumentar el valor

1. Profesor Asociado del Instituto de Química y Tecnología de la Facultad de Agronomía. Universidad Central de Venezuela. Maracay, Venezuela.
2. Personal de la Facultad de Agronomía de la Universidad Central de Venezuela.
3. Profesora del Departamento de Procesos Biológicos de la Universidad Simón Bolívar. Sartanejas. Caracas, Venezuela.

nutritivo en alimentos de bajo costo para las poblaciones de escasos recursos (2-3).

La relación observada entre el bajo consumo de fibra en la dieta y ciertas enfermedades del tracto gastrointestinal y niveles de colesterol en la sangre (4,5), ha incrementado el interés por nuevos productos comerciales de alto contenido de fibra (6). El papel de la fibra en la salud humana viene determinado por la combinación de las propiedades funcionales y de la naturaleza y proporción de sus componentes mayoritarios (7). Ha sido investigado el empleo potencial de la fibra en productos de panadería; así por ejemplo, se ha estudiado la incorporación de 5% de afrecho de trigo en forma de gránulos para aumentar el contenido de fibra dietética en panes (8). Pasapalos, tales como galletas, han recibido una importancia primordial para ser suplementados debido a las ventajas que ofrece su tiempo de vida y su buena calidad comestible (10). El enriquecimiento de galletas con harina de girasol mejora la extensibilidad y el veteado superficial. En un estudio de la evaluación sensorial se detectó que a medida que aumentaba el nivel de harina de girasol disminuía la preferencia de las galletas en cuanto a textura, sabor y aceptación global (11).

La harina de almendra desgrasada de palma aceitera es una rica fuente de fibra dietética (68-71% de fibra insoluble y 2-3% de fibra soluble) y representa una fuente potencial de fibra en los países no productores de trigo. La harina precocida de maíz fue sustituida a niveles de 5% y 10% con harina de almendra desgrasada de palma aceitera, observándose que no afectó la digestibilidad de la proteína, aumentando en un 4% el valor de la fibra dietética y en un 3% el contenido de proteína en las harinas compuestas maíz-palma (12).

En el presente trabajo se estudió el efecto de la sustitución de afrecho de trigo por harina de almendra desgrasada de palma aceitera (HADPA) en la elaboración de galletas y panes comerciales ricos en fibra, en términos de características químicas, física, nutricionales y sensoriales con el fin de evaluar la factibilidad de la utilización de la HADPA como suplemento de fibra en alimentos de consumo masivo en países tropicales.

MATERIALES Y METODOS

Materiales

Se utilizó harina de almendra desgrasada de palma aceitera (HADPA), conocida con el nombre de palmiste, suministrada por «Bananera Venezolana» C.A., San Felipe, Edo. Yaracuy, Venezuela. Dicha harina contenía 20% de grasa, después de la extracción del aceite empleando el método de prensado. Para evitar inconvenientes en la molienda se desgrasó por el método Soxhlet, empleando hexano como solvente. Una vez desgrasada la HADPA, se procedió a molerla a 32 mallas en un molino de martillo (Wiley Mill, Modelo #3). La harina obtenida se empleó para la elaboración de las galletas y panes del presente trabajo.

Análisis químico

Se realizaron los siguientes análisis: humedad, cenizas y grasa de acuerdo a los procedimientos descritos en el AOAC (13), la proteína cruda (N \times 6,25), según el método Microkjeldahl, empleando selenio como catalizador. El almidón se determinó por la metodología de McCready *et al* (14). Los azúcares totales, según Dubeis *et al* (15). La fibra detergente neutro se determinó según la metodología de McQueen y Nicholson (16) y la fibra dietética total por el método de Asp *et al* (17).

En estudios preliminares para determinar el nivel máximo de sustitución del afrecho de trigo en galletas saladas y panes integrales se estableció que al incorporar 6% HADPA en galletas y 5% de HADPA en panes se obtenía aproximadamente el mismo porcentaje de fibra dietética contenido en galletas y panes que pueden ser adquiridos en los mercados. Las galletas se elaboraron según el esquema tecnológico de la Industria de Alimentos El Trébol, sustituyendo el afrecho de trigo por 3%, 4,5% y 6% de harina de almendra desgrasada de palma aceitera (HADPA).

Los panes fueron elaborados según formulación de Panificadora «Calicanto», incorporando de 2,5% a 5% de HADPA. Se tomaron como patrón las galletas comerciales que contienen 6% de afrecho de trigo y el pan industrial con 5% de afrecho de trigo. La industria galletera y la Panificadora permitieron elaborar los productos en estudio en sus instalaciones y donaron las materias primas.

Ensayos biológicos

Se emplearon para cada tratamiento grupos de 6 ratas blancas, recién destetadas (21-28 días), de la cepa Wistar, provenientes del Bioterio de la Universidad Simón Bolívar y con un peso promedio de 46,0 g; distribuyéndose en jaulas individuales, con agua y comida «ad libitum». Simultáneamente un grupo de animales fue alimentado con una dieta control a base de caseína, como proteína de referencia. Las dietas fueron elaboradas según recomendación del American Institute of Nutrition (1977) (5% de aceite de maíz; 1% de vitaminas; 3,5% de minerales; 0,2% de bitartrato de colina y almidón en cantidad suficiente para alcanzar el 100%). Las dietas en base a los panes (2,5-5%) y las galletas con los diferentes niveles de sustitución de HADPA (3,4,5 y 6%), se prepararon al 10% de concentración proteínica al igual que la dieta con caseína. La relación de eficiencia proteica (PER) se determinó según la metodología de Hackler (18). La relación de proteína neta (NPR) según el método de Bender y Doel (19). La digestibilidad aparente se determinó a través de las heces recolectadas, siguiendo el método de Allison (20). realizándose esta recolección durante los últimos 3 días del lapso para la determinación del PER, seguidamente fueron liofilizadas en un liofilizador marca LABCONCO. A continuación se procedió a determinar el nitrógeno excretado por el método microkjeldahl de la AOAC, por triplicado, para las heces recolectadas por

animal, reportándose estos valores como la media del nitrógeno fecal. Conocido el nitrógeno ingerido, según la cantidad de dieta consumida, se procedió a calcular la digestibilidad aparente.

En la determinación de la digestibilidad verdadera (DV), se emplearon los mismos parámetros de la digestibilidad aparente, utilizándose además los valores de nitrógeno excretado en las heces de las ratas alimentadas con una dieta apteica.

Análisis físico

La determinación del color se realizó empleando un colorímetro triestímulo marca Gardner XL-10, calibrándose el instrumento con una placa estándar beige, cuyos valores son: L= +78,9; a= -1,9; b= +22,0. El índice de blancura (IB) se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$I.B. = \frac{\text{Valor de L de la muestra}}{\text{Valor L de la placa estándar beige}} \times 100$$

Por su parte la textura de las galletas se determinó en base a la dureza y fuerza máxima de rompimiento expresado en Kg-f, empleándose un penetrómetro tipo Instron, con la siguiente calibración: peso usado 2 Kg; velocidad de penetración 1 cm/min., velocidad del panel 5 cm/min. La determinación de las dimensiones (largo, ancho y espesor) se midieron en cm.

Análisis sensorial

Se realizó una primera evaluación con un panel no entrenado de 25 personas para obtener información de lo que preferían los consumidores, empleándose una planilla de evaluación para determinar la preferencia. En el caso de las galletas se evaluó coloración superficial, distribución de rugosidad y perforaciones, resistencia a la fractura manual, olor, producción de sonido al presionar con los dientes (craqueo), sabor, nivel de salinidad y preferencia global post-deglución, empleando una escala de más preferida a menos preferida. Las galletas además fueron evaluadas por una persona especializada, el Maestro Galletero de la industria, en base a los parámetros que la industria considera relevantes, como son: color, sabor, textura, olor, crujido y dureza.

Se evaluó la estabilidad durante el almacenamiento de las galletas en base a los parámetros empleados por la industria galletera, humedad (AOAC) y pH, según la metodología reportada por Villavechia(21); por un tiempo de 2 meses de almacenamiento a temperatura ambiente y empacadas con papel celofán.

Análisis estadístico

Para cada una de las evaluaciones se efectuaron los análisis de varianza, según Sokal y Rohlf(22) y en caso de detectar diferencias significativas o altamente significativas se hicieron las comparaciones de promedios por el Test de Duncan (23) (métodos de comparaciones múltiples). Los resultados de la evaluación sensorial se analizaron estadísticamente, según la metodología de Kahan *et al* (24).

RESULTADOS Y DISCUSION

Composición química de las galletas y panes

En las Tablas 1 y 2 se reportan los resultados obtenidos en el análisis químico de las galletas y panes respectivamente. Estos datos reflejan un importante contenido de fibra detergente neutro (FDN) en las galletas con HADPA la cual casi toda la fibra de la palma es insoluble. Al compararlo con las galletas elaboradas con afrecho de trigo a un mismo nivel de sustitución, se confirman los resultados de nuestras investigaciones anteriores (12). Se destaca este parámetro en especial, debido a la estrecha relación observada entre el bajo consumo de fibra en la dieta y ciertas enfermedades entre las que se destacan diversos trastornos del tracto gastrointestinal y del metabolismo de la glucosa y el colesterol (4-24). En general en los resultados de la Tabla 1 se observa que los contenidos de almidón y humedad tienden a disminuir; los de fibra, ceniza y grasa, se incrementan a media que el nivel de sustitución aumenta. En la Tabla 2, se observa el mismo comportamiento en los panes. En cuanto a los contenidos de almidón y azúcares totales, estos disminuyen cuando se incrementa el porcentaje de HADPA, en cambio la fibra dietética aumenta.

Ensayos biológicos

Las Tablas 3 y 4 muestran que en los ensayos biológicos (PER y NPR) no se registraron diferencias significativas entre las diferentes galletas y entre los diferentes panes que contenían HADPA al compararlos con las galletas y panes comerciales, respectivamente, los cuales fueron inferiores a la dieta de caseína ($P \leq 0,05$). Probablemente la deficiencia en aminoácidos azufrados(12) de la HADPA pueda haber influido en los bajos valores de PER (0,92-1, 16 de las galletas y 0,76-0,89 de los panes).

TABLA 1
COMPOSICION QUIMICA DE LAS GALLETAS CON DIFERENTES NIVELES DE HARINA DE ALMENDRA DESGRASADA DE PALMA DE ACEITE (HADPA) Y GALLETA COMERCIAL CON AFRECHO DE TRIGO

DIETAS					
Análisis (g/100 g)	Galleta 3% HADPA	Galleta 4,5% HADPA	Galleta 6% HADPA	Galleta 6% afrecho de trigo (comercial)	HADPA
Humedad	5,7±0,20	3,43±0,32	3,45±0,03	6,55±0,22	10,10±0,30
Proteína	12,61±0,02 ^B	11,96±0,03 ^D	12,14±0,03 ^B	12,82±0,03 ^A	19,00±0,50
Grasa	7,23±0,14 ^C	7,13±0,10 ^C	8,06±0,03 ^B	8,70±0,09 ^A	0,81±0,03
Cenizas	3,03±0,14 ^B	3,02±0,03 ^B	3,12±0,02 ^B	2,79±0,09 ^A	4,10±0,06
Almidón	50,57±0,12 ^A	50,33±0,14 ^A	44,04±0,90 ^C	56,25±0,00 ^B	0,00
Fibra Dietética	6,98±0,22 ^C	7,94±0,25 ^C	9,64±0,14 ^A	8,58±0,06 ^B	73,5± 1,2
Total*					71,00±0,80(I) 2,50±0,30(S)
Fibra detergente neutra*	6,88±0,15 ^C	7,83±0,38 ^C	9,51±0,14 ^A	8,42±0,06 ^B	70,11± 4,00

Letras diferentes indican estadísticamente significativas a nivel de p<0,05 (Test de DUNCAN)

* Base seca I= Insoluble; S=Soluble

TABLA 2
COMPOSICION QUIMICA DEL PAN CON AFRECHO DE TRIGO Y DE LOS PANES DE TRIGO CON 2,5% Y 5% DE HARINA DE ALMENDRA DESGRASADA DE PALMA ACEITERA (HADPA).

Análisis (g/100g)	Pan afrecho de trigo (control)	Pan trigo + 2,5% HADPA	Pan trigo + 5% HADPA
Humedad	28,70±1,90	29,90±1,50	30,20±1,20
Proteínas*	16,30±0,50 ^b	16,60±0,40 ^b	17,20±0,30 ^a
Grasa *	4,00±0,30 ^a	4,50±0,00 ^a	4,40±0,00 ^a
Cenizas *	2,04±0,00 ^a	1,8±0,00 ^a	2,00± 0,00 ^a
Almidón *	36,80±1,20 ^a	35,40±1,50 ^b	34,30±1,00 ^c
Azucares totales*	4,90±0,02 ^a	4,20±0,30 ^a	3,80±0,20 ^b
Fibra dietaria (total) *	5,20±-,15 ^c	6,60±0,12 ^a	7,30±0,18 ^a

Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas a nivel de p=0,05 (test de DUNCAN).

* Base seca I= Insoluble, S= Soluble.

TABLA 3
EVALUACION BIOLOGICA DE LAS GALLETAS CON DIFERENTES NIVELES DE HARINA DE ALMENDRA DESGRASADA DE PALMA DE ACEITE (HADPA) Y GALLETA COMERCIAL CON AFRECHO DE TRIGO

DIETAS					
Análisis	Galleta 3% HADPA	Galleta 4,5% HADPA	Galleta 6% HADPA	Galleta 6% afrecho de trigo (Comerc.)	Caseína
Proteína g/100g	10,1	10,2	10,1	10,2	10,0
PER	0,92±0,39 ^B	1,16±0,43 ^B	1,04±27 ^{Bc}	0,92±0,32 ^B	3,56±14 ^A
NPR	2,03±1,15 ^B	2,36±0,80 ^B	2,05±0,59 ^B	1,86±0,73 ^B	4,97±0,7 ^A
Digestib. Aparente (%)	81,59±2,83 ^B	81,36±14,03 ^B	76,90±7,31 ^B	80,07±1,40 ^B	90,52±0,44 ^A
Digestibilidad Verdadera (%)	86,01±3,49 ^B	86,25±3,47 ^B	82,15±6,89 ^B	85,63±4,30 ^B	93,32±0,69 ^A
Excreción (g/día)	1,57±0,22 ^A	1,58±0,19 ^A	1,63±0,21 ^A	1,58±0,21 ^A	1,19±0,14 ^B

Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas a nivel de p<0,05 (test de DUNCAN).

TABLA 4
INDICE DE EFICIENCIA PROTEICA (PER),
RELACION PROTEICA NETA (NPR),
DIGESTIBILIDAD APARENTE Y VERDADERA
DE LAS DIETAS DE LOS PANES Y CONTROL DE
CASEINA

Análisis	D I E T A S			
	Pan afrecho de trigo	Pan trigo palma 2,5%	Pan trigo palma 5%	Caseína
Proteína g/100g	10,2	10,0	10,1	10,0
PER	0,76±0,18 ^a	0,82±0,28 ^b	0,89±0,24 ^b	3,10±0,17 ^a
NPR	1,62±0,3 ^b	1,65±0,40 ^b	1,67±0,35 ^b	3,48±0,17 ^a
Digestibil. Aparente (%)	87,1±1,5 ^a	87,3±1,8 ^a	90,6±2,1 ^a	90,8±0,8 ^a
Digestibil. Verdadera (%)	90,6±2,3 ^b	90,4±1,8 ^b	90,5±2,3 ^b	92,6±0,8 ^a
Excreción (g/día)	1,52±0,3 ^a	1,54±0,2 ^a	1,59±0,4 ^a	1,21±0,08 ^b

Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas a nivel de $p < 0,05$ (Test de DUNCAN).

En cuanto a la digestibilidad aparente y verdadera, es importante resaltar que las galletas y panes con HADPA presentaron valores que no difieren estadísticamente de los obtenidos en los animales que ingirieron dietas que contenían galletas y panes elaborados con afrecho de trigo. Esto permite concluir que la HADPA no afecta la digestibilidad de las proteínas de estos productos.

En cuanto al efecto en la excreción fecal, realizada con ratas no se observó diferencias significativas entre las galletas y entre los panes con HADPA al compararlos con los productos comerciales elaborados con afrecho de trigo. Esto indicaría que la fibra dietética del afrecho y la de la palma tiene el mismo efecto en la excreción fecal. Además este efecto fue mayor que el producido con la dieta a base de caseína. Este mismo resultado ha sido reportado por investigadores que estudiaron la acción de la fibra insoluble (25,26), quienes señalan una aceleración del tránsito intestinal y un aumento en el peso de las heces en animales monogástricos.

Evaluación física

Los resultados obtenidos en la evaluación física de las galletas y panes, se exponen en las Tablas 5 y 6, destacándose que los valores de índice de blancura en los panes disminuyen al incrementarse los niveles de suplementación con HADPA. En las galletas el color fue diferente estadísticamente en todas las muestras. Esas diferencias se deben probablemente a la presencia de bajas concentraciones de polifenoles en la HADPA (12). La textura de las galletas presentó diferencias significativas, aumentando proporcionalmente al aumentar el contenido de fibra, al compararles con las galletas y panes en estudio. En la Figura 1, se puede observar el comportamiento de la humedad y del pH (parámetros empleados en la industria), de las galletas durante dos meses de almacenamiento a temperatura ambiente. Se observó un mínimo aumento en el contenido de humedad a través del tiempo, como era de esperarse, posiblemente se produjo una absorción de paso de humedad a través de los poros del empaque (celofán) y el medio ambiente circulante. Asimismo, tanto las galletas enriquecidas con HADPA, como la comercial presentan fluctuaciones de pH muy leves, presentando un máximo de variación de 1% por sobre o bajo del pH original, demostrándose así que el bicarbonato de sodio usado como regulador del pH y actúa por igual en las galletas con suplementación de HADPA, como con afrecho de trigo. Estos resultados son muy alentadores al observar que las galletas con harina de almendra desgrasada de palma aceitera no pierde sus buenas características de calidad transcurridos 60 días de almacenamiento, al compararlo con la galleta comercial.

FIGURA 1
Variación de pH y humedad de las galletas

Figura 1. VARIACION DE pH Y HUMEDAD DE LAS GALLETAS

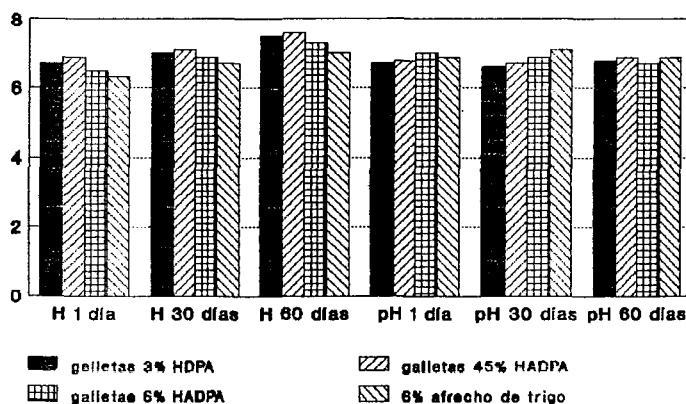


TABLA 5
EVALUACION FISICA DE LAS GALLETAS CON DIFERENTES NIVELES DE HARINA DE ALMENDRA DESGRASADA DE PALMA ACEITERA (HADPA) Y GALLETA COMERCIAL CON AFRECHO DE TRIGO

Galletas	Color I.B.	DIMENSIONES (cm)			Textura (Kg-F)
		Ancho	Largo	Espesor	
3% HADPA	67,76±0,08 ^c	5,57±0,06 ^a	11,13±0,12 ^a	0,33±0,06 ^a	128,67±23,09 ^b
4,5% HADPA	68,51±0,27 ^b	5,77±0,06 ^a	11,53±0,12 ^A	0,33±0,06 ^A	532,70±0,08
6% HADPA	68,95±0,46 ^b	5,90±0,17 ^a	11,80±0,06 ^a	0,33±0,06 ^a	741,00±10,91 ^d
Comercial 6% afrecho de trigo	68,92±0,29 ^a	5,73±0,06 ^a	11,70±0,10 ^a	0,30±0,00 ^a	1.596,67±90,74 ^a

Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas a nivel de $p \leq 0,05$ (Test de DUNCAN).

I.B. Indice de blancura.

TABLA 6
EVALUACION FISICA DE LOS PANES CON DIFERENTES NIVELES DE HARINA DE ALMENDRA DESGRASADA DE PALMA ACEITERA (HADPA) Y PAN COMERCIAL CON AFRECHO DE TRIGO

PANES	Color I.B.	DIMENSIONES (cm)		
		Ancho	Largo	Espesor
2,5 HADPA	53,5±0,50 ^a	9,20±0,8	10,80±0,3	1,30±0,2
5% HADPA	49,8±0,28 ^b	9,15±0,8	10,90±0,3	1,20±0,2
Comercial 6% afrecho de trigo	42,7±0,43 ^c	9,20±0,7	10,80±0,2	0,30±0,1

Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas a nivel de $p \leq 0,05$ (Test de DUNCAN).

I.B. Indice de blancura.

En cuanto a la evaluación organoléptica de los panes los panelistas evaluaron el volumen, color, simetría, uniformidad, textura y sabor dictaminaron su preferencia por el pan que contenía 2,5% de HADPA.

Los resultados obtenidos en el presente estudio permiten concluir que la harina de almendra desgrasada de palma aceitera podría ser empleada como fuente de fibra dietética en la fabricación de galletas hasta un 4,5% y en los panes en 2,5% sin provocar cambios de las características nutricionales y sensoriales al compararlos con los productos comerciales que contienen afrecho de trigo.

AGRADECIMIENTO

Se reconoce el apoyo económico del CONICIT proyecto S1-2266 y el Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad Central de Venezuela Proyecto 2490-91. Se agradece la ayuda técnica de Alicia de Pérez y Gloria de Pinto, así como también a las Industrial «El Trébol» y «Panificadora Calicanto» por su desinteresada colaboración.

REFERENCIAS

1. D'Appolinia B.L. Rheological and baking studies of legume-wheat flours blends. *Cereal Chem* (1):56-63. 1977.
2. Ranhotra G.S. and Lolwe R.J. Breadmaking characteristics of wheat flours fortified with commercial soy protein products. *Cereal Chem* 51:629-634. 1974.
3. Sánche-Marroquín A., Pernia M.A., Maya S. and Ramos M.V. Processing nutritional quality and sensory evaluation of amaranth enriched corn tortilla. *J. Food Sci.* 52(5):1611-1614. 1987.
4. Johnsson L. Predicting the blood cholesterol reduction capacity of fibres. *European Food and Drink. Review* Autum. 69-71. 1990.
5. Spiller G.A. and Amen R.J. «Fiber in human nutrition». Plenum Press. New York. USA. 1976.
6. Barker D. "Fiber in wheat Foods": *Cereal Foods World.* (23):551-558. 1978.
7. Englyst H.N. and Cummings J.H. Non-Starch polysaccharides (dietary fiber) and resistant starch. In: *new Developments in Dietary Fiber.* 205-225. Plenum Press, New York, 1990.
8. Holt S.D. McWatters K.H. and Reswreccion A. Validation of predicted baking performance of muffins containing mixtures of what cowpea, sorghum and cassava flours. *J. Food Sci.* 57(2):470-474. 1992.

9. Andres C. «Multi-Functional Fiber», Food Processing. USA (13 special Issue):39-40. 1986.
10. Tsen C. and Hoover W.J. High protein bread from wheat flour fortified with full-fat soy flour. Cereal Chem 50: 7-16. 1993.
11. Cloughton S.M. and Pearce R.J. Protein enrichment of sugar-snap cookies with sunflower protein isolated. J. Food Sci. 54(2): 354-356. 1989.
12. Pacheco Delahaye E., Girlando R. y d'Amico D. Evaluación Química y Nutricional de la harina desgrasada de palma africana como fuente de fibra dietaria. Acta Científica Venezolana. Vol. 43 (Sup. 1): 180. 1992.
13. AOAC. Association of Official Analytical Chemist. 13th edition. Washington DC. USA. 1980.
14. McCready R., Guggiols J., Silveira J. and Owens H. Determination of starch and amylose in vegetable. Anal. Chem 22(9):1156-1158.
15. Dubois M. Gilles K., Hamilton J., Rebers P. and Smith F. Colorimetric Method for determination of sugar and related sustances. Anal Chem. 28(3):350-360. 1956.
16. McQueen R. and Nichocon J. Fiber analysis: Modification of the Neutral-Detergent Fiber procedure for cereals and vegetables by using amylose. J. Assoc. of Anal. Chem. 62:676-681. 1979.
17. ASP N-G Johansson C-G, Hallmer H. and Siljestrom M. Rapid enzymatic assay of insoluble and soluble dietary fiber. J. Agric. Food Chem. 31:476-482. 1983.
18. Hackler L. Methods of measures protein quality. A review of bioassay procedures Cereal Chem 54(4):984-995. 1977.
19. Bender A.E. and Doel B.H. Note on the determination of net protein value. Brit. J. Nutr. 11:140. 1957.
20. Allison J.B. Biological evaluation of protein. Physiol. Rev. 35:664-669. 1965.
21. Villavecchia V. Harinas, almidones y productos derivados. Química Analítica Aplicada. Ed. Gilli Barcelona, España. Vol II. Cap I p.84 1963.
22. Sokal y rolht. «Biometría» Editorial Blume Madrid. 1979.
23. Duncan D.B. Multiple range and multiple test Biometrics. 11:1-42. 1970
24. Kaham G., Cooper D., Dapa Vasilou A. and Kramer A. Tables for determining significance of differences for ranked data. Food. Tech. 27(5):65-71. 1973.
25. Jenkins D.J.A., Reynolds D., Slavin B., Leeds A.R., Jenkins A.L. and Jepson E.M. Dietary fiber and blood lipids: Treatment of hypercholesterolemia with guar crisp bread. Am J Clin Nutr. 33:575-581. 1980.
26. Feldheim W. Cereal fibre in human nutrition. Cordina 86 (3):36-39. 1985.

Recibido: 30-08-1993

Aceptado: 28-02-1994

Fortification of precooked maize flour with coarse defatted maize germ¹

*Francisco Rivero², Enzo Racca², Carlos Martínez-Torres³, Peter Taylor³, Irene Leets³, Eleonora Tropper³,
María Nieves García-Casal³, José Ramírez³, Miguel Layrisse³,*

SUMMARY. The possibility of improving the dietary value of precooked maize flour through fortification with 11% coarse defatted maize germ was investigated. The results of tests in humans presented here show that the total iron absorption from the fortified preparation is similar to that from the precooked maize alone, but with the advantage of being richer in several nutrients: protein (25%), zinc (61%), potassium (47%) and magnesium (112%), as well as fiber (34%). Fortification lowers (by 20%) rather than raises the cost of the flour, and may be an important contribution to the diet of those populations where maize bread is a major component of the diet.

RESUMEN. Fortificación de la harina precocida de maíz con germen de maíz semirrefinado y desgrasado. Fue investigada la posibilidad de mejorar el valor dietético de la harina precocida de maíz mediante la fortificación con 11% del germen de maíz semirrefinado y desgrasado. Los resultados de las pruebas en humano presentados aquí, mostraron que la absorción total del hierro de las preparaciones fortificadas fue similar a la absorción del maíz precocido administrado solo, pero con la ventaja de estar enriquecido con varios nutrientes: proteínas (25%), zinc (61%), potasio (47%), magnesio (112%), como también con fibra (34%). La fortificación disminuye el precio de la harina en 20% y puede ser una importante contribución a mejorar la dieta de aquellas poblaciones en las cuales el pan de maíz es un componente importante en la dieta.

INTRODUCCION

Precooked maize flour has almost replaced maize grain and polished maize as a foodstuff in the diet of the socioeconomic populations of Central America and the northern parts of South America. There are several advantages of using precooked maize flour instead of the whole maize grain in the preparation of food, including greater convenience, a reduced phytate content, and improved iron bioavailability. The only major disadvantage is the reduction of its iron content from about 3 mg to 1 mg/100 g (1). Considering the high incidence of iron deficiency in Latin America (2), it should be beneficial to replace the iron lost during the industrial preparation of the precooked flour due to removal of the germ. This article

presents data showing iron absorption from precooked maize flour fortified with products derived from maize germ which also contain relatively large amounts of protein, as well as other minerals besides iron.

MATERIAL AND METHODS

Subjects

The data on iron absorption were obtained from 56 adult subjects living in rural areas of Venezuela who volunteered to participate in this study. This type of study has been approved by the Ethical Committee for Clinical Investigation of the Venezuelan Institute for Scientific Research (IVIC). The blood hemoglobin concentration (3), serum iron concentration (4), unsaturated serum transferrin concentration (5), and serum ferritin concentration (6), were determined in each subject.

Maize processing

During the first stage of the industrial processing of the maize grain at Refinadora de Maíz Venezolana, the endosperm is separated from the germ and hull by dry-milling. The endosperm is first steam cooked in tunnels, then milled, to give

1 Part of the studies presented here were supported by REMAVENCA and Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICIT).

2 Refinadora de Maíz Venezolana C.A. (REMAVENCA), Venezuela.

3 Centro de Medicina Experimental, Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC), Caracas, Venezuela.

the final precooked maize flour preparation. In the second stage of the process, oil is extracted from the germ and hull by solvent extraction with hexane, and the remaining material milled and screened into three fractions: bran, coarse germ and refined germ.

Fortification of precooked maize flour with defatted coarse and refined maize germ

Whole precooked maize grain is enriched with 11% coarse maize germ (particle size: 250-595 µm diameter), then milled on an industrial scale to produce a flour called «Pronto» to be consumed by the lower socioeconomic strata of the population, at a 20% lower cost than the precooked maize flour. The flour has a slight brown color, but surveys carried out by the manufacturers have shown that the taste of the bread and other organoleptic properties are very similar to the bread prepared with precooked maize flour alone.

The same process was repeated in the laboratory with the difference that the dough from each flour was extrinsically labeled with a different radioisotope of iron before mixing to prepare the bread. A similar blend was also prepared using 11% refined germ instead of the coarse form. For one study Pronto was also labeled with radioiron. In all cases the dough was shaped into disc-shaped «arepas» and baked in an oven at 200°C for 45 minutes. With the addition of water to produce the dough, 100g of flour produce an arepa of approximately 250 g. Since the consistency of the germ does not permit the preparation of a dough, when refined germ was given alone, it was simmered in a saucepan for about 15 minutes with enough water to give a final semisolid preparation, which was then labeled with radioiron.

Radioactive labeling

The ^{55}Fe and ^{59}Fe as ferric chloride was obtained from New England Nuclear, Boston. Approximately 0.7 µCi of ^{59}Fe or 2 µCi of ^{55}Fe were used to extrinsically label each meal. The radiolabel was added to each portion of dough with a syringe, then carefully mixed in before shaping into an arepa. As in previous studies, a reference dose containing 3 mg of iron as ferrous sulfate mixed with ascorbic acid at a 2:1 ascorbate-iron molecular ratio was also administered (7).

Iron absorption

All the meals were given in the morning after an overnight fast. No food or drink was allowed for 3 h after the administration of the meal. On day 1, the laboratory blended bread was administered. In the first study only the precooked flour portion was labeled (^{59}Fe) whereas in the other two studies, the germ fraction was also labeled (^{55}Fe). Blood was drawn 15 days later to determine the hematological profile of the subjects tested, and to measure the radioactivity in the blood samples. The subjects were then given another meal on day 15 and the reference dose of ferrous sulfate on day 16. Blood was drawn on day 30 to measure incorporation of radioactivity.

Duplicate 10 ml aliquots of blood together with samples of the radioactive food and the reference dose were prepared for counting following the technique of Dern and Hart (8,9). The iron absorption from food was calculated using an estimate of blood volume based on sex, weight and height (10). No correction was made to determine the total iron utilization.

Chemical analysis of foods.

The macronutrient determinations were performed according to standard methods: protein (11), fat (12) and fiber (13). The micronutrients were determined by atomic absorption spectroscopy, except iron which was determined by the digestion method (14). The antinutrients phytate (15) and tannin (16) were also determined.

Statistical analysis.

The means and standard errors for the iron absorption and serum ferritin concentration data were calculated using logarithms. Absorption results were compared using Student's test for paired data, except in the one case that the test for unpaired data was applied to the absorption from meals given to different subjects.

RESULTS

Chemical analysis

Table 1 shows the nutrient and antinutrient contents of the different maize products. Several important macronutrients and micronutrients are found at significantly higher concentrations in the defatted germ compared to the precooked flour, especially protein, iron, potassium, magnesium and zinc. The enrichment of Pronto due to the addition of coarse germ to precooked maize may be appreciated in the last column. However, the addition of germ also raises the levels of the antinutrients, particularly the phytate content which being 19 times higher in the coarse germ than in the precooked flour resulted in a 2.5-fold increase in the Pronto preparation.

Iron absorption

Table 2 shows the results of three studies which compare the iron absorption from different fractions derived from maize which may be used in the preparation of the bread. The mean iron absorption from the reference dose of ferrous sulfate and the serum ferritin concentration results indicated that the three groups were significantly different in terms of their iron status. Therefore, their iron absorption results could not be compared directly. In order to normalize the absorption results, the iron absorption from each individual was multiplied by the mean of the total ferritin concentration of all individuals studied and divided by the serum ferritin concentration of that particular subject. Normalization was not based on the reference dose absorption results, as in previous studies, since experience has shown that large daily physiological variations in iron absorption make the ferritin concentration normalization method more reliable.

TABLE 1
NUTRIENT AND ANTINUTRIENTS IN MAIZE PRODUCTS

	Precooked maize flour	Defatted germ		
		Refined	Coarse	Pronto
Macronutrients (g/100g)				
Protein	8.02±0.55	23.13±1.09	29.48±1.11	10.05±0.45
Fat	1.26±0.20	0.45±0.20	0.70±0.20	0.78±0.21
Total Fiber	0.78±0.11	N.T.	5.40±0.10	1.17±0.11
Micronutrients (mg/100g)				
Ca	1.5±0.03	5.9±0.50	8.6±0.30	2.9±0.03
Co	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Cu	0.12±0.01	0.60-0.03	0.70±0.03	0.22±0.01
Fe	0.12±0.33	18.1±3.43	12.27±0.42	2.10±0.35
K	110±30	1227±200	1060±60	200±10
Mg	17±0.4	422±30	298±20	51±4
Mn	0.13±10.01	1.70±0.30	1.62±0.01	0.12±0.01
Na	0.15±0.1	0.9±0.02	0.6±0.02	0.3±0.04
Zn	0.74±0.04	9.2±1.0	2.3±0.2	1.29±0.03
Antinutrients (mg/100g)				
Phytate	198±18	4172±241	3740±72	544±49
Tannin	17	80	107	21

N.D. = Not detected

N.T.= Not tested

The means and standard deviations were obtained from 5 random samples with the exception of the tannate for which only 2 samples were tested.

In the first study, the mean iron absorption by 10 subjects from precooked maize bread given alone was 5.3% (A), and 29% from the reference dose (D). Line B shows the low percentage absorption (2.8%) from 11 g of refined germ alone which contains a relatively high concentration of phytate (37 mg/g). When precooked maize flour and refined germ were combined (C), the iron absorption from the radiolabeled precooked fraction was slightly less than from the precooked flour (A), alone but significantly greater than from the refined germ (C) alone ($p < 0.02$). In this preparation the phytate in the germ has been diluted to 6 mg/g, but is not as low as the 2 mg/g found in precooked maize flour.

In the second study, the mean absorption from precooked maize flour alone was 6.5% (A), not significantly different, according to Student's test for unpaired data from the 5.3% measured in the first study ($p > 0.7$). In the second test, iron absorption from the two fractions of the doubly labeled

TABLE 2
IRON ABSORPTION FROM DIFFERENT MAIZE GRAIN PRODUCTS

	STUDY		
	1	2	3
Subjects-Hematological Profile			
Number/sex	3M/7F	5M/11F	15M/15F
Hemoglobin (g/dL)	12.9±0.5 ^a	12.4±0.4	13.0±0.3
Serum transferrin saturation (%)	28±5	28±4	31±2
Serum ferritin (µg/L)	21 (17-28)	20 (15-26)	34 (30-39)
Absorption results^{bc}			
A.			
Precooked maize flour (100g)	5.3 ^a (3.0-9.2)	6.5 ^a (4.3-9.9)	
B.			
Refined germ (11g)	2.8 ^b (1.7-4.4)		
Blended flour			
C.			
Precooked maize flour (89g)	4.6 ^a (2.9-7.2)	4.5 ^{ba} (2.8-7.4)	2.8 ^a (2.2-3.5)
D.			
Germ fraction (11g)	—	3.4 ^{bd} (2.2-5.3)	3.2 ^{ac} (2.4-4.1)
E			
Pronto (100g)			3.5 ^a (2.6-4.6)
Reference dose FeSO ₄ (3 mg Fe)	29.3 (22.5-38.2)	20.3 (16.5-25.0)	17.5 (14.4-21.3)

^a The hemoglobin and transferrin results shown are arithmetic means ±S.E. The figures for the ferritin concentration and the absorption results represent the geometric mean, with the standard error range in brackets below.

^b The iron absorption results were normalized according to the ferritin concentration of the individual. See RESULTS.

^c Means in the same column followed by a common letter in italics are not significantly different according to Student's test for paired data at the 5% level.

^d Refined germ

^e Coarse germ.

blended bread (precooked flour and refined germ) was measured (C and D). The absorptions from the two fractions were different, 4.5% and 3.4% respectively, but not significantly. The absorption from the germ fraction, but not the precooked flour fraction, was significantly lower than that from the precooked maize bread (A) given alone. However, since the total amount of iron in the blended flour is higher, the actual amount absorbed may be calculated to be 55% higher (113 µg) than from the precooked flour (73 µg).

In the third study, the percentage of iron absorption from the two fractions of the doubly labeled bread was measured, as in the previous study, with the exception that coarse germ was added instead of refined. The mean absorptions from the precooked (C) and germ (D) fractions were similar, 2.8% and 3.2% respectively ($p > 0.3$). This percentage of absorption is comparable to the 3.5% obtained with Pronto ($p > 0.2$) which contains the same proportion of coarse germ, and approximately

the same level of phytate (see Table 1). Based on the weights of the fractions, their iron content, and percentage iron absorption, absolute amounts of 71 µg and 74 µg of iron absorbed may be calculated for the laboratory blended flour and Pronto respectively.

DISCUSSION

Defatted corn germ meal or cake, the residue obtained after industrial oil extraction, has been destined in the past to animal feed. However, its transformation into defatted corn flour of good organoleptic and nutritional quality, by applying a milling and screening process, has been of value in the elaboration of several food products due to its high content of protein (20-30 %) (17), lysine (5.9 g/100g proteins) (18) and several minerals (potassium, magnesium, iron and zinc). Defatted germ has been used, up to 25%, in the preparation of baked cookies and muffins (19), to fortify wheat bread adding 12%-24% (17), and in pasta products by blending commercial durum semolina with 10-30% of germ flour (20).

During the industrial milling and screening of maize germ, two fractions are obtained: the coarse and the refined fractions. Both are characterized by a higher protein and iron content than the flour prepared from the endosperm, but the former is also high in fibre. Refined germ could be used to fortify precooked maize flour; study 2 showed that the absorption of iron was 55% higher than from the precooked flour given alone. However, this product already has a use in the food industry and its utilization in combination with the precooked maize flour would increase the cost of the final product.

The studies presented here demonstrate that the coarse germ may also be used for fortification. Although the figures are not significantly different, the absorptions from the two fractions of the fortified flour in the second study (precooked flour and refined germ) were somewhat different (4.5% and 3.4% respectively). In the third study using coarse germ and with a larger number of subjects, the absorptions from the two fractions were very similar (2.8% and 3.2%) suggesting that they were equally affected by the absorption inhibitors and constitute a common iron pool.

There are limits to the proportion of germ which may be added. More than about 11% makes the fortified flour difficult to form into a dough, and may be expected to be counterproductive because of the increased phytate concentration. The iron absorption from whole maize which contains about 100 mg phytate/100 g has been shown to be low (1,7,21).

Fortification of precooked maize flour with 11% coarse germ has been found by the manufacturers to fulfill consumer requirements with regards to appearance and taste. Our results show that iron absorption from bread prepared from the fortified flour is similar to that from unfortified flour, but with the advantage of a higher concentration of protein (25%), fiber (34%), zinc (16%), potassium (47%) and magnesium (112%).

REFERENCES

1. Martínez-Torres C., Taylor P., Leets I., Tropper E., Ramfrz J & M. Layrresse. Iron absorption from maize bread. *Food Nutr Bull* 9:64-69, 1987.
2. Layrresse M. Iron deficiency in Latin America -causes and prevention. In: *International Symposium of Vitamin and Nutrition*. *Int J Vit Nutr Res* 27:105-116, 1985.
3. Crosby WH., Minn JL & FW Furth. Standardizing a method for clinical hemoglobinometry. *US Armed Forces Med J* 5:693-703, 1954.
4. International Committee for standardization in hematology. Recommendations for measurement of serum iron in human blood. *Brit J Haematol* 38:291-294, 1978a.
5. International Committee for standardization in hematology. The measurement of total and saturated iron-binding capacity in serum. *Brit J Haematol* 38:281-290, 1978b.
6. Flowers CA., Kuizon M., Beard JL., Skikne BS., Covell AM & JD Cook. A serum ferritin assay for prevalence studies of iron deficiency. *Am J Hematol* 23:141-151, 1986.
7. Layrresse M., Cook JD., Martínez-Torres C., Roche M., Kuhn IN & CA Finch. Food iron absorption: a comparison of vegetable and animal foods. *Blood* 33:430-443, 1969.
8. Dem JR & WL Hart. Studies with doubly labeled iron. II. Separation of iron from blood samples and preparation of ferrous perchlorate for liquid scintillation counting. *J Lab Clin Med* 57:460-467, 1961b.
10. Nadler SB., Hidalgo JV & T. Bloch. Prediction of blood volume in normal human adults. *Surgery* 51:224-232, 1962.
11. Lowry O., Rosenbrough N., Farr L. & R Randal. Protein measurement with the phenol reagent. *J Biol Chem* 193:265-275, 1951.
12. American Association of Food Chemists. *Approved Methods of Analysis*. Method 30-26, approved April 1961, revised October 1976, reviewed October 1982. The Association: St. Paul, MN, USA, 1983.
13. Prosky L., Asp I., Schweizer RF, De Vries JW & I. Furda. Determination of insoluble, soluble and total dietary fiber in food and foods products. Interlaboratory study. *J Assoc Anal Chem* 71:1017-1023, 1988.
14. Bothwell TH., Charlton RW., Cook JD & CA Finch. *Iron Metabolism in man*. Oxford, England, Blackwell Scientific Publications, 1979.
15. Haug W. & HJ Lantzsch. Sensitive method for the determination of phytate in cereals and cereal products. *J Sci Food Agric* 34:1423-1426, 1983.
16. Price ML & L. Butler. Rapid visual estimation and spectrophotometric determination of tannin content of sorghum grain. *J Agric Food Chem* 25:1268-1273, 1977.
17. Barbieri R. & EM Casiraghi. Production of a food grade flour from defatted corn germ meal. *J Food Tech* 18:35-41, 1983.
18. Tsen CC., Mejibian CN & GE Ingle. Defatted corn germ flour as a nutrient fortifier for bread. *Cereal Chem* 51:262-273, 1974.
19. Blessin CW, García WJ, Deatherage WL, Calvin JE & HGE Ingle. Composition of three food products containing defatted corn germ flour *J Food Sci* 38:602-606, 1973.
20. Lucisano M., Casiraghi EM & R. Barbieri. Use of defatted corn germ flour in pasta products. *J Food Sci* 49:482-484, 1984.
21. Cook J., Layrresse M., Martínez-Torres C., Walker R., Monsen E. & CA Finch. Food iron absorption measured by an extrinsic tag. *J Clin Invest* 51:805-815, 1972.

Recibido : 03-07-1993

Aceptado : 10-02-1994

Declaración de Quito para la Yodación Universal de la Sal

Los representantes de los países participantes en la Reunión Regional sobre la Yodación Universal de la Sal para la Eliminación de los Desórdenes por Deficiencia de Yodo en las Américas, celebrada en Quito, Ecuador del 9 al 11 de abril de 1994, reconociendo que:

- Una gran proporción de las personas que viven en la Región de las Américas se encuentra en situación de riesgo de sufrir desórdenes por deficiencia de yodo (DDI), debido a la inadecuada disponibilidad de yodo en el suelo, en el agua y en los alimentos.
- La deficiencia de yodo afecta de manera importante el desarrollo de los niños y niñas y constituye la causa más importante de retardo mental.
- Muchos países en la región han hecho frente a los problemas por deficiencia de yodo en forma exitosa, mediante la fortificación de todo tipo de sal con yodo. Esta práctica ha demostrado ser la más efectiva y barata para eliminar desórdenes por deficiencia de yodo.
- En los países de la región, donde la yodación de sal no ha sido sostenida, se ha registrado un incremento de los desórdenes por deficiencia de yodo.

Por lo tanto, declaramos:

1. Que toda la población de la región tiene el derecho a recibir cantidades adecuadas de yodo y que nuestros Gobiernos tienen la obligación de asegurar el cumplimiento de este derecho.
2. Que el modo más eficiente para asegurar niveles adecuados de ingesta, es el de yodar toda la sal de consumo humano y animal, incluyendo la sal empleada en la fabricación de alimentos.
3. Que mediante un trabajo continuo y conjunto con todos los productores de sal, distribuidores, exportadores, importadores y consumidores, nuestros Gobiernos establecerán las disposiciones legales, técnicas y administrativas y otras medidas necesarias para asegurar que toda la sal de consumo sea adecuadamente yodada e igualmente implementarán estrategias de información adecuada para el conocimiento y participación en el empleo de la sal yodada a través de los Ministerios pertinentes (Salud, Educación, Economía) y otras ins-

tituciones públicas y privadas relacionadas con este problema, como los municipios, centros de investigación, organismos comunitarios, no gubernamentales, entidades de bien social y organismos de cooperación externa.

4. Que la yodación de toda la sal de consumo humano y animal deberá mantenerse en forma continua y que los países de la región desarrollaremos mecanismos para asegurar su sustentabilidad y el cumplimiento de la meta de la yodación universal de la sal para fines de 1995 con el propósito de asegurar que no aparezcan nuevos casos de desórdenes por deficiencias de yodo y que éstos sean virtualmente eliminados en el Continente Americano.
5. Que toda la sal de consumo que se comercializa entre los países de la región debe estar debidamente yodada.

Países signatarios de la Declaración de Quito

POR AMERICA LATINA Y EL CARIBE

- Argentina
- Bolivia
- Brasil
- Canadá
- Colombia
- Costa Rica
- Cuba
- Chile
- Ecuador
- El Salvador
- Estados Unidos de América
- Guatemala
- Guyana
- Haití
- Honduras
- México
- Nicaragua
- Panamá
- Paraguay
- Perú
- República Dominicana
- Uruguay
- Venezuela

POR AFRICA

- Argelia
- Camerún
- Etiopía
- Zaire
- Zimbahue

POR ASIA:

- Bangladesh
- China

POR EUROPA:

- Bélgica

Notas

Werner G. Jaffé **Ochenta años de vida ejemplar**

El Dr. Werner G. Jaffé nació en 1914 en la ciudad de Frankfurt-Main, Alemania. Realizó sus estudios de química en la Universidad de Berlín, de donde se trasladó a Suiza obteniendo su doctorado en química en la Universidad de Zurich; su tesis doctoral la realizó bajo la tutoría del Profesor Paul Karrer, Premio Nobel de Química del año 1937. Posteriormente emigró a Venezuela donde fijó su residencia definitiva; en 1958 obtuvo su doctorado en la Universidad Central de Venezuela. Durante su carrera científica realizó estancias en la Universidad de Wisconsin, Madison, Estados Unidos de América, en el Instituto de Microbiología de Trinidad, el Instituto Max Planck de Munich, Alemania y la Universidad de Viena en Austria. En el campo académico, se desempeñó como Profesor de Bioquímica en la Universidad Central de Venezuela, en las Facultades de Agronomía, Ingeniería, Farmacia y Ciencias, facultad ésta en la que realizó su trabajo más dilatado y fructífero. Fue co-fundador y Secretario General de la Asociación Venezolana para el Avance de la Ciencia, fundador y primer Secretario del Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad Central de Venezuela, Presidente de la Sociedad Latinoamericana de Nutrición y creador del Curso Interdisciplinario de Postgrado en Planificación y Alimentaria y Nutricional.

Desarrolló una vasta actividad editorial resumida así: Editor de la «Revista de la Sociedad Venezolana de Química» (1948-1949), de la «Revista de Agricultura de Venezuela» (1949), de «Archivos Venezolanos de Nutrición (1950-1965)», de «Acta Científica Venezolana» (1950-1957) y de «Archivos Latinoamericanos de Nutrición» (1960-1980). También formó parte del cuerpo editorial de «Nutrition Reports International», hoy llamada «Journal of Nutrition Biochemistry» y de «Qualitas Plantarum». Ha sido honrado con el Premio Nacional de Investigación Científica José María Vargas (1960), año en el cual recibió la Medalla de Honor de la Facultad de Ciencias de la Universidad Central de Venezuela. En 1979 le fue otorgado el Premio Nacional en Ciencias, en 1981 el Premio de la Asociación Pro-Investigación Universitaria de la Universidad Central de Venezuela y en 1983 el Premio Nacional en Tecnología. Recibió tanto la Orden Andrés Bello como la Francisco de Miranda. En 1979 le fue conferido el título de Profesor Honorario de la Facultad de

Ciencias de la Universidad Central de Venezuela, recibiendo igual honor de la Universidad Simón Bolívar en 1984.

Sus contribuciones más importantes se refieren a: la estructura química de los carotenoides, co-descubrimiento de la vitamina B₁₂, factores antinutricionales en leguminosas, complementación del valor nutritivo de legumbres y cereales, toxicidad del selenio en alimentos, desarrollo de fórmulas nutricionales enriquecidas (Lactoviso) y utilización de subproductos agroindustriales en la alimentación humana.

Con el fin de honrar al Dr. Jaffé en su octogésimo cumpleaños, el Grupo de Bioquímica y Nutrición del Centro de Biología Celular de la Universidad Central de Venezuela, ha organizado un Simposio titulado: «Lo Bueno y lo Malo de las Semillas de Leguminosas» y un Curso de Postgrado: «Lectinas: Caracterización Físicoquímica, significado Nutricional y Aplicaciones Biomédicas». Ambos eventos se realizarán en la ciudad de Caracas del 24 al 28 de octubre de 1994, para los cuales han sido invitados: Dra. Susan Bardocz, Dr. Arpad Pusztai, Rowet Research Institute, Aberdeen, Reino Unido. Dra. Yehudith Birk, Universidad Hebrea de Jerusalén, Rehovot, Israel. Dr. Johan Hoebeke, Université Francois Rabelais, Tours, Francia. Dr. R. Collin Hughes, National Institute for Medical Research, London, Reino Unido. Dr. Irvin E. Liener, University of Minnesota, St. Paul, EE.UU.

Dr. Abraham Levy Benschimol

Cualquier información adicional puede obtenerse en:

Grupo de Bioquímica y Nutrición
Centro de Biología Celular
Facultad de Ciencias
Universidad Central de Venezuela
Apartado 47.114, Caracas 1041-A
Venezuela
Teléfono: (02) 751.01.11/ 03.77
Fax: (02) 752.58.97

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 substancias 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 caloría (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.

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 suscripción 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:**

Sociedad Latino Americana de Nutrición

S.L.A.N.

SOLICITUD DE INSCRIPCION

Nombre: _____

Título Profesional: _____

Estudios de Postgrado: _____

Cargo: _____

Lugar de trabajo: _____

Dirección del trabajo: _____

Código Postal: _____ Ciudad: _____

Teléfono: _____ Fax: _____ Télex: _____

Dirección Postal: _____

Código Postal: _____ Ciudad: _____ País: _____

Teléfono: _____ Fax: _____ Télex: _____

Fecha de la solicitud: ____ / ____ / ____

Anote las referencias bibliográficas de dos de sus publicaciones más recientes:

1. _____

2. _____

Socios de SLAN que le postulan

Nombre:

Firma:

Adjunte su Curriculum Vitae actualizado.

La cuota anual de SLAN es de \$30 con la revista Archivos Latinoamericanos de Nutrición y de \$10 sin la revista.
Los cheques deben ser emitidos en US \$ a nombre de: SOCIEDAD LATINOAMERICANA DE NUTRICION.

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

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 Pantin
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	67
ARTICULOS GENERALES	
Dietary fibre, what it is and how it is measured Claudia P. Sánchez-Castillo, Peter J.S. Dewey, Héctor Bourges and W. Philip T. James.....	68
TRABAJOS DE INVESTIGACION	
Nutrición Humana	
Fibra dietética y tumores gastrointestinales, implicaciones para la población mexicana Socorro Parra-Cabrera, María del Cielo Fernández-Ortega, Susan Vandale-Toney y Lizbeth López-Carrillo.....	76
Características actuales del bocio endémico en tres zonas censoras de Chile Santiago Muzzo, Medardo Burgueño, Fresia Carvajal, Regina Moreno y Laura Leiva.....	82
Evolución de la desnutrición infantil en Chile y algunos de sus factores condicionantes: un análisis de series temporales Hugo Amigo, Luis Díaz, Paulina Pino y Gloria Vera.....	87
Bioquímica Nutricional	
Dietary fish oil affects food intake, growth and hematologic values of weanling rats Zury Domínguez and Virgilio Bosch.....	92
Efecto de la restricción en el consumo de alimento de la rata adulta sobre el crecimiento y la composición tisular de la cría lactante Lourdes Barbosa y Soledad De Santiago.....	98
Efecto de la suplementación dietética con aceite de soya o marino en la reversibilidad de la deficiencia de ácido docosahexaenoico (22:6w3) en el cerebro y eritrocitos de ratas Julia Araya, Paz Robert y Cecilia Barriga.....	105
Estudio del comportamiento del hierro fijado sobre la caseína bovina y fosforilada luego de la hidrólisis producida por las proteasas digestivas Ana Luisa Medina Gallardo.....	112
Ciencias de Alimentos	
Deshidratación osmótica de manzana (Granny Smith) con diferentes soluciones osmóticas Edmundo Mercado -Silva y Daniel Vidal-Brotons.....	117
Substitución del afrecho de trigo por harina de almendra desgrasada de palma aceitera rica fuente de fibra dietética en la elaboración de galletas y panes Emperatriz Pacheco de Delahaye, María Cedres C., Alemar Alvarado y Ana Ciocchia.....	122
Fortification of precooked maize flour with coarse defatted maize germ Francisco Rivero, Enzo Racca, Carlos Martínez-Torres, Peter Taylor, Irene Leets, Eleonora Tropper, María Nieves García-Casal, José Ramírez, Miguel Layrisse.....	129
DECLARACION DE QUITO PARA LA YODACION UNIVERSAL DE LA SAL	133
NOTAS	134
INFORMACION PARA LOS AUTORES	135