

VOL. XXXIX

JUNIO 1989

No. 2

ARCHIVOS LATINOAMERICANOS DE NUTRICION

(Continuación de Archivos Venezolanos de Nutrición)

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

ISSN 004-0622

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 aquéllos 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

**INCAP
Apartado Postal 1188
Guatemala, Guatemala, C. A.**

**Colabore con su Revista, divulgándola y enviando
sus artículos para su publicación**

Arch. Latinoamer. Nutr.

ALAN-VE ISSN 0004-0622

Se autoriza la reproducción del material publicado en esta revista a condición de que se cite su procedencia y se envíen ejemplares de las publicaciones que contengan textos reproducidos a la Oficina Editorial de Archivos Latinoamericanos de Nutrición.

ARCHIVOS LATINOAMERICANOS DE NUTRICION

ORGANO OFICIAL DE LA
SOCIEDAD LATINOAMERICANA DE NUTRICION

VOL. XXXIX

JUNIO, 1989

No. 2

CONTENIDO

	Página
EDITORIAL	125
TRABAJOS DE INVESTIGACION	
NUTRICION HUMANA	
Consumo de leguminosas en preescolares: Efecto de la densidad energética y tipo de preparación. — <i>Marcela Alviña, Gloria Vera y Héctor Araya</i>	129
NUTRICION EXPERIMENTAL	
Desarrollo y evaluación química y nutricional de un alimento infantil a base de lupino dulce, trigo y leche. — <i>Ricardo Catricheo, Fernando Sánchez, Marcela Aguayo, Digna Ballester y Enrique Yáñez</i>	141
CIENCIAS DE ALIMENTOS	
Proteínas de lupino dulce (<i>Lupinus luteus</i> , var. Aurea/Weico, y <i>Lupinus albus</i> , var. Multolupa). I. Extracción y filtración por Sephadex. — <i>Magaly Vásquez, Enrique Knapp, Ernesto Guzmán e Isabel Zacarías</i>	150
Proteínas de lupino dulce (<i>Lupinus luteus</i> , var. Aurea/Weico, y <i>Lupinus albus</i> , var. Multolupa). II. Separación por electroforesis. — <i>Isabel Zacarías, Enrique Knapp, Ernesto Guzmán y Magaly Vásquez</i>	159
Aislamiento y caracterización parcial de la enzima fenoloxidasa de manzana (<i>Malus domestica</i> , var. Anna). — <i>Herlinda Soto-Valdéz y Augusto Trejo-González</i>	171
TECNOLOGIA DE ALIMENTOS	
Enlatado de "humitas" preparadas con maíz opaco-2 complementado con lupino dulce (<i>Lupinus albus</i> , var. Multolupa). Cambios nutricionales y de calidad. — <i>Lavinia Camacho, Eduardo Bañados y Evelyn Fernández</i> . .	185

LATINFOODS — COMPOSICION DE ALIMENTOS

Composición química y calidad biológica de harina desgrasada de avellana. — <i>Mario Villarroel T., Edith Biolley H., Ricardo Schneeberger K., Digna Ballester C. y Sergio Santibáñez R.</i>	200
NUEVOS LIBROS.	213
NOTAS.	219
INFORMACION PARA LOS AUTORES.	221

ARCHIVOS LATINOAMERICANOS DE NUTRICION

ORGANO OFICIAL DE LA
SOCIEDAD LATINOAMERICANA DE NUTRICION

VOL. XXXIX

JUNE, 1989

No. 2

CONTENTS

	Page
EDITORIAL	125
RESEARCH PAPERS	
HUMAN NUTRITION	
Legume consumption in preschool children: Effect of energy density and type of preparation. — <i>Marcela Alviña, Gloria Vera and Héctor Araya</i> . . .	129
EXPERIMENTAL NUTRITION	
Development and chemical and nutritional evaluation of an infant food based on sweet lupin, wheat and milk. — <i>Ricardo Catricheo, Fernando Sánchez, Marcela Aguayo, Digna Ballester and Enrique Yáñez</i>	141
FOOD SCIENCE	
Sweet lupine (<i>Lupinus luteus</i> , var. Aurea/Weico and <i>Lupinus albus</i> , var. Multolupa) proteins. I. Extraction and filtration by Sephadex. — <i>Magaly Vásquez, Enrique Knapp, Ernesto Guzmán and Isabel Zacarías</i>	150
Sweet lupine (<i>Lupinus luteus</i> , var. Aurea/Weico and <i>Lupinus albus</i> , var. Multolupa) proteins. II. Their separation by electrophoresis. — <i>Isabel Zacarías, Enrique Knapp, Ernesto Guzmán and Magaly Vásquez</i>	159
Isolation and partial characterization of polyphenoloxidase from apple (<i>Malus domestica</i> , Anna var.). — <i>Herlinda Soto-Valdez and Augusto Trejo-González</i>	181
FOOD TECHNOLOGY	
Canning of "humitas" prepared with opaque-2 corn, complemented with sweet lupin (<i>Lupinus luteus</i> , var. Aurea/Weico). Nutritional quality changes. — <i>Lavinia Camacho, Eduardo Bañados and Evelyn Fernández</i> . .	185

LATINFOODS – FOOD COMPOSITION

Chemical composition and biological quality of defatted hazel-nut flour. — <i>Mario Villarroel T., Edith Biolley, Ricardo Schneeberger K., Digna</i> <i>Ballester C. and Sergio Santibáñez R.</i>	200
NEW BOOKS	213
NOTES	219
INSTRUCTIONS TO AUTHORS	221

MAIZ DE ALTA CALIDAD PROTEINICA (QPM)

El maíz, como alimento para el hombre, se asocia mucho con América Latina, pues este grano es no sólo una contribución de Meso América al mundo en general, sino que el cereal es un alimento de gran importancia en la nutrición y alimentación de grandes sectores poblacionales de México, Centro América y varios países de América del Sur, como Colombia y Venezuela. Las formas de consumirlo son muy variadas, ya que ésta es una gama que abarca desde el grano tierno hasta productos como la tortilla y la arepa, grano expandido y tostado, y en algunos casos hasta fermentado. El grano de maíz también se ha asociado al estado nutricional de las poblaciones que lo consumen, debido principalmente a la calidad de su proteína que, como se sabe, es deficiente en los aminoácidos esenciales lisina y triptofano.

La verdad es que desde este punto de vista, el maíz no es peor que otros cereales, y el problema radica más en la falta de alimentos adecuados nutricionalmente que mejoren su calidad deficiente. Estos alimentos suplementarios, o bien no están disponibles a la población, como son los productos de origen animal, o no son del todo aceptables ni disponibles, como sucede en el caso de las proteínas vegetales, la soya, por ejemplo, ricas en los aminoácidos esenciales que limitan la calidad proteínica del maíz.

En base a las consideraciones precedentes, hace alrededor de 25 años y después de muchos años de investigación, se encontró que existen genes capaces de influir sobre la calidad de la proteína del maíz, y el resultado de esa labor fue el desarrollo de un maíz que en esa época se le dio el nombre de "Opaco-2". A diferencia del maíz normal, éste tiene más lisina y triptofano, y el valor biológico de su proteína es más de dos veces superior que la del normal. Esto quedó claramente demostrado, y con esa demostración se pensó que el estado nutricional de la población consumidora del grano mejoraría sustituyendo el maíz normal por el Opaco-2 en sus dietas. No obstante, al mismo tiempo que se ganó en calidad nutritiva, se perdió en capacidad de producción, siendo este aspecto más importante que el primero. Después de varios años de investigaciones genéticas, sin embargo, se lograron corregir casi por completo o en gran medida los problemas agronómicos del maíz Opaco-2, dando origen a granos de maíz de alto rendimiento, granos duros y eficientemente convertibles en la clase de alimentos que acostumbra preparar y consumir la población. A estos nuevos maíces se les conoce hoy día como "Maíces QPM" o "Maíces de Alta Calidad Proteínica". Existen varios materiales que se han producido a nivel de agricultor, pero todavía no ha sido posible extender su producción a nivel comercial.

La conversión de los maíces Opaco-2 a maíces QPM se ha logrado eficientemente, encontrándose una pequeña pérdida en la calidad nutricional de la proteína, pero

iguales en características agronómicas a variedades e híbridos. No se ha logrado introducir estos maíces de alto valor nutritivo en los sistemas de producción, a pesar de los beneficios nutricionales obtenidos. La introducción en sí es un proceso difícil, pues requiere de un esfuerzo continuo por parte de los organismos responsables, apoyados por el interés a nivel político y el convencimiento del propio productor, quien en verdad no está interesado en el valor nutritivo sino en el posible ingreso que pueda obtener. Muchas de estas actividades también se han debilitado por las opiniones de nutricionistas, en el sentido de que la población necesita calorías y no proteína, ya que se asume que la población consume alimentos suplementarios, lo cual no es del todo cierto.

A pesar de ello, el potencial nutricional que ofrecen los maíces QPM es grande, y deben realizarse esfuerzos para aplicar éstos en beneficio de la población, y así poder aprovechar los años y los costos de la inversión que implica el llevar una idea al terreno de la realidad.

Existen varias avenidas para lograrlo, ajeno a la introducción al nivel de productos, y una de ellas es industrializarlo y convertirlo en productos alimenticios para la población. Los esfuerzos en este sentido tienen méritos y los beneficios serían muy halagadores. ¿Qué se podría hacer?

*Ricardo Bressani
Editor General*

TRABAJOS DE INVESTIGACION

CONSUMO DE LEGUMINOSAS EN PREESCOLARES: EFECTO DE LA DENSIDAD ENERGETICA Y TIPO DE PREPARACION

Marcela Alviña¹, Gloria Vera¹ y Héctor Araya^{1,2}

Facultad de Medicina
Universidad de Chile
Santiago, Chile

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la densidad energética (D.E.), la edad y el tipo de preparación, sobre el consumo de guisos de leguminosa-cereal y sopas de leguminosas en preescolares, con el propósito de determinar si tales preparaciones son adecuadas para su alimentación. Treinta niños de 2 a 5 años de edad, que vivían en un hogar de menores, fueron divididos en tres grupos experimentales de 10 niños cada uno. A todos los grupos se les ofreció 29 preparaciones que diferían en su densidad energética: 0.85, 0.94 y 1.03 kcal/g en los guisos, y 0.47, 0.62 y 0.80 kcal/g en las sopas. El estudio se desarrolló durante 29 días no consecutivos a través de un período total de 180 días. El consumo de alimentos fue determinado en cada niño por pesada diferencial. Tanto el consumo como el aporte energético de los guisos fue significativamente mayor que el de las sopas (312 vs 223 g y 288 vs 138 kcal, respectivamente). El efecto de la edad sólo se verificó en el volumen y la energía ingerida, al expresarse por kg de peso, siendo el grupo de mayor edad, el que tuvo una menor ingesta de la preparación y de energía, en guisos así como en sopas. La relación entre el consumo de los guisos y la D.E. fue inversa y significativa. Los guisos de leguminosa-cereal fueron consumidos por los preescolares en cantidades suficientes para satisfacer sus demandas energéticas en un tiempo de comida, cuando estas preparaciones aportaban 1.03 kcal/g (30/o de adición de aceite). La baja D.E. de las sopas, hizo que estas preparaciones fueran inapropiadas para el consumo de este grupo etario.

Manuscrito modificado recibido: 18-7-88.

- 1 Científicos del Departamento de Nutrición, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Independencia 1027, Santiago, Chile.
- 2 Toda correspondencia y solicitud de reimpresos debe enviarse al Dr. Araya, a la dirección citada.

INTRODUCCION

El consumo de leguminosas forma parte de los hábitos alimentarios de las poblaciones de los países en desarrollo, especialmente de los grupos de nivel socioeconómico bajo (1, 2), cuya dieta está formada por una proporción importante de alimentos de origen vegetal: cereales, tubérculos y leguminosas (3, 4).

Respecto a la utilización de las proteínas, las leguminosas y cereales tienen cualidades nutricionales complementarias. En efecto, la proteína de las leguminosas tiene una deficiencia de aminoácidos azufrados y una alta concentración de lisina; en cambio la de los cereales es deficiente en lisina y proporciona un buen suministro de aminoácidos azufrados. En un estudio clásico, Bressani y Elías (5) demostraron que, en una combinación de frijol y maíz, la utilización biológica óptima se encontraba al combinar estos alimentos en una proporción de 500/o de proteína de maíz y 500/o de frijol. De tal manera que las leguminosas constituyen un excelente recurso alimentario para mejorar la calidad proteínica de las dietas estructuradas esencialmente por cereales; éste es el caso de Chile, en que las poblaciones pobres obtienen un 500/o de su ingesta energética del trigo (6). Por otra parte, es necesario enfatizar que en Chile, al igual que en otros países en desarrollo, existe la sabiduría de consumir simultáneamente las leguminosas con cereales.

Las leguminosas presentan también un alto aporte de proteínas que en algunos casos supera el 200/o, en circunstancias en las que, por ejemplo, la dieta chilena muestra valores comprendidos entre 10 y 120/o (6). Son importantes también sus aportes de vitamina B₁ y B₂ así como de minerales, calcio, hierro y zinc, por ejemplo, aunque en el caso de los minerales, su biodisponibilidad es baja.

Las formas de preparación de las leguminosas varían de acuerdo al grupo etario que las va a consumir. Así, el adulto las prefiere en forma de grano entero y en el caso de los niños preescolares y lactantes mayores se les ofrece en forma molida, ya sea como productos industrializados (sopas, purées) o bien moliendo en el hogar la preparación dirigida al adulto.

La combinación de cereal-leguminosa tiene un alto contenido de almidones, los que absorben agua en su estructura resultando preparaciones voluminosas y de baja densidad energética y de nutrientes. Estas características pueden condicionar una ingesta inadecuada de nutrientes y de energía en aquellos grupos etarios con menor capacidad gástrica, como es el caso de los preescolares (7, 8), y han sido propuestas como un factor etiológico de la desnutrición de estos niños en los países en desarrollo (9, 10). Consecuentemente, es necesario evaluar en niños preescolares, si son capaces de consumir los guisos y sopas de leguminosas, preparados en la forma habitual, para suplir sus requerimientos de energía y así disponer de información experimental para decidir en cuanto a su utilización en la alimentación de este grupo etario.

MATERIAL Y METODOS

Los sujetos del estudio fueron 30 preescolares de ambos sexos, con edades comprendidas entre dos años y medio y cinco años, que vivían en

un hogar de menores de la ciudad de Santiago de Chile. Al comienzo del estudio se realizó un examen físico y clínico, mediante el cual se confirmó que todos los niños tenían un buen estado de salud.

Las características antropométricas de los 30 preescolares al inicio del estudio, agrupados por límites de edad, se detallan en la Tabla 1. Posteriormente, a cada niño se le determinó el peso y la talla corporal cada 15 días, aplicando las técnicas habituales.

TABLA 1

CARACTERISTICAS ANTROPOMETRICAS DE 30 PREESCOLARES AL INICIO DEL ESTUDIO, AGRUPADOS POR EDAD

Edad (meses)	n	Sexo		Peso* (kg)	Talla* (cm)
		Niño	Niña		
30 - 41	13	10	3	13.3 ± 1.4	90.7 ± 3.3
42 - 47	9	3	6	14.0 ± 1.5	92.6 ± 3.0
48 - 60	8	5	3	16.8 ± 1.8	102.1 ± 6.1
Total	30	18	12	14.1 ± 2.1	95.1 ± 5.0

* Valores promedio ± desviación estándar.

Los 30 niños se dividieron en tres grupos de 10, similares en cuanto a edad, sexo y características antropométricas, a los que se les proporcionó la misma dieta en tres niveles de densidad energética.

Se estudió el consumo de tres guisos de leguminosa-cereal (lenteja-arroz, frijol-spaghetti y garbanzo-arroz) y dos sopas de lenteja y frijol proporcionadas en forma de sopa líquida (100/o peso sólido) y de purée (160/o peso sólido). Dichas preparaciones formaban parte de la alimentación habitual de los 30 niños incluidos en la investigación, y se consumieron como guiso principal del almuerzo, en forma alternada en 29 días no consecutivos, durante un período de 180 días.

Cada uno de los guisos y sopas se estudió en tres diferentes niveles de densidad energética (I, II y III), para lo cual se elaboró, en cada caso, una preparación que contenía los mismos ingredientes en igual cantidad, a excepción del aceite. A las preparaciones correspondientes a la densidad energética menor (I) se les adicionó 2.4 cc de aceite, a las de densidad energética intermedia (II) 4.3 cc, y a las de densidad energética mayor (III) 9 cc de aceite. Estas cantidades promedio fueron usadas tanto en guisos como en sopas.

El consumo de las preparaciones se determinó por pesada diferencial. Los niños fueron estimulados, pero no obligados, a comer los alimentos servidos, y se les dio una cantidad extra de preparación de leguminosas, si ellos así lo requerían. Los datos que se muestran corresponden sólo al consumo de la preparación principal del almuerzo, ya sea guiso o sopa.

El complemento de los guisos fue una porción de ensalada que aportaba 28 kcal y un postre, generalmente jalea, de 95 kcal. En el caso de las sopas, se proporcionó una entrada de verduras surtidas con medio huevo, cuyo aporte calórico era de 120 kcal y el postre, con un aporte de 95 kcal.

Las muestras de las preparaciones servidas fueron recolectadas, llevadas al laboratorio y homogeneizadas para hacer un análisis químico proximal, en el que se determinó el porcentaje de humedad, cenizas y lípidos según la AOAC (11), y de proteínas según el método Kjeldahl utilizando el destilador Markham (12). El extracto no nitrogenado se obtuvo por diferencia, y el contenido de energía se calculó utilizando los factores Atwater.

La adecuación energética de las preparaciones se determinó de acuerdo al requerimiento promedio de energía, según FAO/OMS/UNU 85 (13). El aporte de energía que el almuerzo debía proporcionar se estimó en un 330/o de ese requerimiento promedio. Este porcentaje se fundamentó en la distribución calórica recomendada por la Junta Nacional de Auxilio Escolar y Becas (JUNAEB) 1984 (14).

Para el análisis de los resultados se calculó promedio y desviación estándar y la significancia estadística aplicando la prueba "t" de Student, o análisis de varianza, de acuerdo a Snedecor y Cochran (15).

RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados del análisis químico proximal de las preparaciones de leguminosas y leguminosa-cereal, y la proporción en que se combinaron estos alimentos, se aprecia en la Tabla 2. Las combinaciones de lenteja-arroz y frijol-spaghetti mostraron una composición similar; en cambio la de garbanzo-arroz mostró menor humedad, mayor porcentaje de nutrientes y un valor energético superior. Destaca también el alto porcentaje de humedad de las sopas y su escaso aporte de nutrientes y de energía. Pak, Vera y Ayala (16) por un lado, y Hudson, John y Paul (17) por el otro, demostraron que el porcentaje de humedad era el factor principal que condiciona el aporte de nutrientes y de energía de las preparaciones. El análisis de los resultados que figura en la Tabla 2 demostró la misma tendencia.

Según se observa en la Tabla 3, el consumo promedio de los guisos fue mayor que el de las sopas en aproximadamente 100 g, lo que significó una diferencia en el aporte energético total de 150 kcal. Ambas diferencias fueron estadísticamente significativas ($P < 0.05$). También se evidenciaron diferencias significativas en los valores de volumen y energía consumidos, expresados éstos por kg de peso.

Al comparar los distintos guisos entre sí (Tabla 4) se observaron diferencias significativas ($P < 0.001$) en el consumo expresado como volumen total, así como en la ingesta de calorías totales, y de las calorías por kg de peso. El guiso de frijol-spaghetti mostró el mayor consumo y mayor ingesta energética, aun cuando no hubo diferencias significativas en los valores de volumen por kg de peso. Esta situación podría deberse a que en la población chilena, este guiso corresponde al de mayor consumo entre las leguminosas. Así, al estar ya incorporado a los hábitos alimentarios,

TABLA 2

PROPORCION DE LEGUMINOSAS:CEREAL Y COMPOSICION QUIMICA PORCENTUAL*
DE LAS PREPARACIONES ESTUDIADAS

Preparaciones	Proporción	Humedad	Cenizas	Proteínas	Lípidos	ENN***	Energía kcal/100 g
Lenteja—Arroz	80:20	76.8	1.4	4.6	0.9	16.3	92.0
Frijol—Spaghetti	80:20	77.2	1.6	4.4	0.8	16.1	88.6
Garbanzo—Arroz	80:20	65.7	1.7	5.2	2.1	25.3	140.9
Sopa líquida de leguminosa**		88.5	1.4	2.3	0.9	6.9	45.2
Sopa purée de leguminosa**		85.1	1.6	2.9	1.0	9.4	58.5

* Valores promedio (g/100 g).

** Valores promedio de lenteja y frijol.

*** ENN = Extracto no nitrogenado.

TABLA 3

CONSUMO DE PREPARACIONES Y DE ENERGIA DE LOS
30 PREESCOLARES ESTUDIADOS

Preparación	Volumen*		Energía*	
	(g)	(g/kg)	(kcal)	(kcal/kg)
Guisos	311.9 ± 18.4	21.2 ± 1.3	287.5 ± 25.3	19.6 ± 1.7
Sopas	222.9 ± 6.3	14.8 ± 0.7	138.0 ± 7.0	9.3 ± 0.5

* Valores promedio ± desviación estándar.

Significancia estadística. Prueba "t" de Student, guisos vs sopas en:

Volumen total P < 0.05.

Volumen/kg P < 0.05.

Energía total P < 0.05.

Energía/kg P < 0.05.

TABLA 4

VOLUMEN CONSUMIDO E INGESTA ENERGETICA DE LAS
DIFERENTES PREPARACIONES

Preparaciones	Volumen*		Energía*	
	(g)	(g/kg)	(kcal)	(kcal/kg)
Guisos:				
Lenteja-Arroz	290.6 ± 16.7	18.9 ± 2.7	265.9 ± 19.2	18.3 ± 2.6
Frijol-Spaghetti	335.5 ± 20.8	22.9 ± 3.3	323.1 ± 32.2	21.9 ± 3.5
Garbanzo-Arroz	309.5 ± 65.5	20.9 ± 4.9	273.6 ± 53.7	18.9 ± 3.9
Sopas:				
Líquida de leguminosa	229.2 ± 17.9	15.4 ± 2.3	131.0 ± 34.7	8.8 ± 2.5
Purée de leguminosa	216.6 ± 30.8	14.1 ± 2.1	144.9 ± 26.5	9.7 ± 2.0

* Valores promedio ± desviación estándar.

Significancia estadística. Análisis de varianza (una dirección), efecto del tipo de preparación en:

Guisos. Volumen total P < 0.001.

Volumen/kg N.S.

Energía total P < 0.001.

Energía/kg P < 0.001.

Sopas: Volumen total N.S.

Volumen/kg N.S.

Energía total N.S.

Energía/kg N.S.

tuvo mayor aceptabilidad. En relación a las sopas, se observó que los niños consumieron un poco más de las de consistencia líquida, aunque el aporte energético total fue menor que las de consistencia purée; sin embargo, ninguna de estas diferencias fue significativa.

El efecto de la edad de los niños en el consumo de guisos y sopas se ilustra en la Tabla 5. Según se aprecia, no se verificaron diferencias significativas en el volumen y las calorías totales ingeridas, probablemente porque, independientemente de la edad, la oferta era similar. Consecuentemente, los niños de mayor edad (48 a 60 meses) y por lo tanto de mayor peso, tuvieron un consumo de la preparación y de energía por kg de peso, significativamente menor. Los resultados sugieren que los niños mayores no pidieron repetición para compensar esta menor ingesta por kg de peso. Este hecho podría indicar que los preescolares, aunque difieran en edad, tienen una capacidad gástrica similar, o bien que, en los niños mayores, la aceptabilidad de las preparaciones no fue buena.

Los resultados descritos en la Tabla 6, muestran que el grupo que consumió los guisos de menor densidad energética, presentó el mayor consumo de éstos, no obstante la menor ingesta calórica. Estos resultados siguen la misma tendencia que la observada por Araya, Vera y Pak (18) al estudiar el consumo de preparaciones, por preescolares, en un tiempo de comida. Con respecto a las sopas, los niños a los que se les ofreció las de densidad energética más baja, presentaron un consumo levemente mayor que los otros grupos, pero no significativo. Por esta razón las diferencias en el aporte calórico total y por kg fueron altamente significativas ($P < 0.001$).

Con respecto a la adecuación energética, se ha establecido que el almuerzo debería cubrir un 33% del requerimiento energético diario. Si se considera la edad, los guisos contribuyeron al aporte de energía del almuerzo, con límites comprendidos desde 55.4% para los niños de mayor edad hasta 62% para el grupo de menores, y las sopas, desde 24.8 hasta 30.3% (Tabla 5). Los menores porcentajes de adecuación energética correspondieron, tanto en guisos como en sopas, al grupo etario de mayor edad (48-60 meses) que consumió preparaciones con la menor densidad energética. Como era de esperar, la mejor adecuación energética la presentó el grupo de niños de menor edad que consumieron las preparaciones con la densidad energética más alta.

La adecuación energética fue mejorando a medida que aumentaba la densidad energética de la preparación. En los guisos, fluctuó desde 57.0% para el grupo I, hasta 63.1% para el grupo III, y las sopas cubrieron desde 21.8 hasta 35.5% de un almuerzo completo (Tabla 6).

Los resultados demuestran que los guisos de leguminosas con la adición de 3% de aceite (grupo III), pueden ser una importante fuente energética y de algunos nutrientes en la alimentación del preescolar, especialmente en aquéllos de menor edad. Estos niños son capaces de consumirlos en las cantidades adecuadas para lograr un porcentaje satisfactorio de adecuación energética. Estas observaciones contradicen lo comunicado por diferentes autores (19, 20), los que coinciden en afirmar que los alimentos vegetales, como las leguminosas y cereales, no son apropiados para satisfacer las demandas energéticas y de nutrientes de los preescolares, a causa de su alta voluminosidad. Es posible que las observaciones que han conducido a considerar a las leguminosas y a los

TABLA 5
EFFECTO DE LA EDAD SOBRE EL CONSUMO, INGESTA DE ENERGIA Y ADECUACION ENERGETICA
DE GUIOS Y SOPAS

Preparación	Edad (meses)	Volumen*		Energía*		Adecuación** energética (%)
		(g)	(g/kg)	(kcal)	(kcal/kg)	
Guisos	30 - 41	304.9 ± 38.7	22.5 ± 4.1	279.2 ± 40.3	20.5 ± 3.6	62.0
	42 - 47	308.3 ± 53.4	21.2 ± 3.8	293.0 ± 53.7	20.1 ± 3.8	58.9
	48 - 60	327.3 ± 37.3	19.1 ± 2.6	300.1 ± 35.5	17.5 ± 2.9	55.4
Sopas	30 - 41	291.1 ± 18.1	15.8 ± 1.9	131.2 ± 28.1	9.5 ± 3.1	29.1
	42 - 47	227.4 ± 12.4	15.4 ± 3.9	150.7 ± 33.3	10.2 ± 2.2	30.3
	48 - 60	215.8 ± 27.3	12.4 ± 2.1	134.6 ± 31.0	7.8 ± 2.2	24.8

* Valores promedio ± desviación estándar.

Significancia estadística. Análisis de varianza (una dirección), efecto de la edad en:

Guisos: Volumen total N.S.
 Volumen/kg P < 0.01
 Energía total N.S.
 Energía/kg P < 0.01.

Sopas: Volumen total N.S.
 Volumen/kg P < 0.001
 Energía total N.S.
 Energía/kg P < 0.01.

** En relación al requerimiento energético del almuerzo

TABLA 6

EFFECTO DE LA DENSIDAD ENERGETICA (D.E.) SOBRE EL CONSUMO, INGESTA DE ENERGIA Y ADECUACION ENERGETICA DE GUIOS Y SOPAS

Grupos de D.E	D.E.* (kcal/g)	Volumen*		Energía		Adecuación** energética (o/o)
		(g)	(g/kg)	(kcal)	(kcal/kg)	
Guisos: I	0.85 ± 0.1	329.9 ± 36.8	22.1 ± 4.4	275.8 ± 30.3	18.4 ± 3.7	57.0
	0.94 ± 0.6	307.1 ± 42.6	21.8 ± 3.4	282.8 ± 43.2	20.2 ± 3.3	58.4
	1.03 ± 0.9	298.1 ± 46.5	19.8 ± 3.5	305.4 ± 54.1	20.2 ± 3.9	63.1
Sopas: I	0.47 ± 0.1	228.6 ± 31.0	14.6 ± 2.5	105.4 ± 12.3	6.9 ± 1.4	21.8
	0.62 ± 0.1	222.4 ± 15.9	15.5 ± 1.6	136.8 ± 14.2	9.6 ± 1.1	28.3
	0.80 ± 0.1	217.7 ± 27.4	14.1 ± 2.5	171.7 ± 21.2	11.2 ± 1.9	35.5

* Valores promedio ± desviación estándar.

Significancia estadística. Análisis de varianza (una dirección), efecto de la densidad energética en:

Guisos: Volumen total	P < 0.05.	Sopas: Volumen total	N.S.
Volumen/kg	P < 0.05.	Volumen/kg	N.S.
Energía total	P < 0.05.	Energía total	P < 0.001.
Energía/kg	N.S.	Energía/kg	P < 0.001.

** En relación al requerimiento energético del almuerzo.

cereales como alimentos poco apropiados para la alimentación del preescolar, hayan sido hechas con alimentos preparados en forma de sopas o purés. En estas preparaciones la absorción de agua es mayor y, por lo tanto, la voluminosidad de éstas aumenta en comparación con las preparaciones que llevan el grano entero, tal como se ofrecieron los guisos en este estudio. El aumentar la densidad energética mediante la adición de aceite podría solucionar el problema (7, 8), pero los resultados obtenidos por nosotros demuestran que a pesar del elevado porcentaje de aceite agregado a las sopas (50/o), no se alcanzó a cubrir los requerimientos energéticos de los preescolares, en un tiempo de comida. Otra alternativa de solución es la disminución del porcentaje de humedad de las sopas, lo que traería como consecuencia un aumento de la consistencia, hecho que produciría un menor consumo por parte de los preescolares (7, 21).

El presente trabajo constituye una contribución necesaria que demuestra la importancia de las leguminosas en la alimentación de los niños en edad preescolar. Existe la práctica de proporcionar las leguminosas a los niños pequeños, en forma de sopa o bien moliendo el grano hasta obtener la consistencia de puré, suponiendo que el niño no está capacitado para consumir las preparaciones que llevan el grano entero. Sin embargo, los resultados de este estudio sugieren claramente que las preparaciones de leguminosas en forma de sopas o purés, no son nutricionalmente adecuadas para ese grupo etario, y que los guisos de leguminosas tradicionales tienen una alta aceptabilidad, por lo que son recomendables para su alimentación. Es importante destacar que se requiere de la adición de una cantidad de aceite para incrementar la densidad energética a valores cercanos a 1 kcal/g.

Conviene también enfatizar que la información sobre consumo de leguminosas descrita en este trabajo, se ha generado del estudio de las preparaciones tradicionales que forman parte de los hábitos de la alimentación chilena. Es, pues, necesario realizar estudios de este tipo en otros países latinoamericanos con distintas realidades alimentarias, para recomendar las formas más apropiadas de consumo de leguminosas a los niños preescolares de la Región.

SUMMARY

LEGUME CONSUMPTION IN PRESCHOOL CHILDREN: EFFECT OF ENERGY DENSITY AND TYPE OF PREPARATION

The objective of this study was to evaluate the effect of the energy density (E.D.), children's age and type of meals on the consumption of dishes based on legumes and its combination with cereals by preschool children, for the purpose of defining if they were adequate for preschool children's feeding. Thirty children aged 2 to 5 years old who lived in a foster home, were assigned to three experimental groups. Each group was formed by 10 children. Twenty-nine meals were offered to all groups, differing in their energy density: 0.85, 0.94 and 1.03 kcal/g in dishes of legumes and cereals, and 0.47, 0.62 and 0.80 kcal/g in soups. The study was conducted during 29 non-consecutive days throughout a period of 80 days. Food consumption of each child was determined by differential weighing. Food and energy consumption of the legume-cereal dishes was significantly higher than those observed in the case of soups (312 vs 223 g and 288 vs 138 kcal, respectively). The effect of age

was verified only when the volume and energy intake was expressed by kg of body weight, being the group with the highest age which showed the lowest food and energy intake, either in dishes or in soups. The relationship between meal consumption and E.D. was significantly inverse. Dishes based on legume-cereal were consumed by pre-school children in sufficient amounts to satisfy their energy requirements in one meal, when these meals have an E.D. of 1.03 kcal/g (3% of added oil). The low E.D. of soups conditioned the fact that these meals were inadequate for the feeding of this age group.

BIBLIOGRAFIA

1. Jaffé, W. G. Las semillas de leguminosas como fuentes de proteína en América Latina. En: **Recursos Proteínicos en América Latina**. Moisés Béhar y Ricardo Bressani (Eds.). Guatemala, C. A., Talleres Gráficos del Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá, 1971, p. 228-241.
2. Tagle, M. A. **Nutrición Comunitaria. VI. Ambientación de la Problemática en el Subdesarrollo**. Santiago, Chile, 1984, p. 141.
3. Berg, A. **The Nutrition Factor: Its Role in National Development**. Washington, D. C., The Brookings Institution, 1973, 50 p.
4. Bressani, R., E. Ibáñez & J. M. González. Small-scale integrated agricultural production family farm. **Food Nutr. Bull**, 8(3): 30-36, 1986.
5. Bressani, R. & L. G. Elías. Legume foods. In: **New Protein Foods**. Vol. I A. A. M. Altschul (Ed.). New York, N. Y., Academic Press, Inc., 1974.
6. Araya, H., E. Yáñez, A. Brito & N. Pak. Estructura y características nutricionales, según presupuesto familiar, de la dieta de la población del gran Santiago. En: **Resúmenes de comunicaciones libres, IV Congreso Nacional de Nutrición y Alimentación, 1981**. Publicados en: **Rev. Chil. Nutr.**, 9: 207, 1981.
7. Church, M. Dietary factors in malnutrition: Quality and quantity of diet in relation to child development. **Proc. Nutr. Soc.**, 38: 41-49, 1979.
8. Rutishauser, I. H. E. & J. D. L. Frood. The effect of a traditional low-fat diet on energy and protein intake, serum albumin concentration and body-weight in Ugandan preschool children. **Brit. J. Nutr.**, 29: 261-268, 1973.
9. Scrimshaw, N. S. W. O. Atwater Memorial Lecture. Through a glass darkly-discerning the practical implication of human dietary protein-energy interrelationships. **Nutr. Revs.**, 35: 321-337, 1977.
10. Payne, P. R. Safe protein-calorie ratios in diets. The relative importance of protein and energy intake as causal factors in malnutrition. **Am. J. Clin. Nutr.**, 28: 281-286, 1975.
11. Association of Official Analytical Chemists. **Official Methods of Analysis of the AOAC**. 13th ed. Washington, D. C., The Association, 1980.
12. Markham, R. A steam distillation apparatus suitable for micro Kjeldahl analysis. **Biochem. J.**, 36: 790, 1942.
13. **Necesidades de Energía y Proteínas**. Informe de una Reunión Consultiva Conjunta FAO/OMS/UNU de Expertos. Ginebra, Organización Mundial de la Salud, 1985. (Serie de Informes Técnicos No. 724).
14. Junta Nacional de Auxilio Escolar y Becas. Documento sobre: **Bases Especiales de los Requisitos Generales de Servicio a Suministrar**. Santiago, Chile, 1984.
15. Snedecor, G. N. & W. G. Cochran. **Statistical Methods**. Ames, Iowa, The Iowa University Press, 1972.
16. Pak, N., G. Vera & H. Araya. Energy density of diets: Analysis of the dietary variables that allow its prediction. **Nutr. Repts. Internat.**, 28: 309, 1983.

17. Hudson, G. J., P. M. V. John & A. A. Paul. Variation in the composition of Gambian foods: The importance of water in relation to energy and protein content. *Ecol. Food Nutr.*, **10**: 9-17, 1980.
18. Araya, H., G. Vera & N. Pak. Effect of dietary energy on food intake of pre-school children in one meal. *Nutr. Repts. Internat.*, **28**: 965-971, 1983.
19. Ljungqvist, S.B., O. Mellander & U.S.O. Svanberg. Dietary bulk as a limiting factor for nutrient intake in pre-school children. I. A problem description. *J. Trop. Pediatr.*, **27**: 68-77, 1981.
20. Graham, G., D. V. Glover, G. L. Romana, D. de Morales & W. C. Mac Lean Jr. Nutritional value of normal and opaque-2 corn for infants and children. I. Digestibility and utilization. *J. Nutr.*, **110**: 10-61, 1980.
21. Hellstrom, A., A. M. Hermansson, A. Karlsson, B. G. Ljungqvist, O. Mellander & U. S. O. Svanberg. Dietary bulk as a limiting factor for nutrient intake with special reference to the feeding of pre-school children. II. Consistency as related to dietary bulk. A model study. *J. Trop. Pediatr.*, **27**: 127-137, 1981.

DESARROLLO Y EVALUACION QUIMICA Y NUTRICIONAL DE UN ALIMENTO INFANTIL A BASE DE LUPINO DULCE, TRIGO Y LECHE^{1,2}

*Ricardo Catricheo³, Fernando Sánchez⁴, Marcela Aguayo⁵,
Digna Ballester⁵ y Enrique Yáñez⁶*

Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA),
Universidad de Chile
Santiago, Chile

RESUMEN

De desarrolló un alimento infantil en base a 27.50/o de harina de trigo candeal, 200/o de harina de lupino dulce y 200/o de leche en polvo con 180/o M.G., agregado de vitaminas y minerales, sometiendo las harinas a un tratamiento de cocción-extrusión.

El análisis químico proximal reveló que los resultados encontrados tanto en materias primas como en la mezcla de lupino-trigo-leche (LTL), concuerdan con los valores informados por otros autores. El análisis de aminoácidos de harina de lupino, mostró un bajo contenido en aminoácidos azufrados, a la vez que la harina de trigo candeal evidenció su deficiencia en lisina. La mezcla final (LTL), parece ser suficiente en todos los aminoácidos esenciales, excepto los azufrados. Las harinas de trigo y de lupino acusaron valores de PER de 1.3 y 1.7 respectivamente.

La calidad biológica de la proteína medida como PER dio un valor de 2.6 para la mezcla LTL, y 2.8 para la proteína control (huevo en polvo). La proteína de la mez-

Manuscrito modificado recibido: 6-7-89.

- 1 Esta investigación fue financiada parcialmente por la Subvención No. A-303-803 del Departamento de Investigación y Bibliotecas de la Universidad de Chile.
- 2 El trabajo corresponde a la Tesis de Grado del primer autor, Ricardo Catricheo, previo a la obtención del Grado de *Magister* en Planificación en Alimentación y Nutrición, otorgado por el INTA.
- 3 Instituto Profesional de Chillán, Chile.
- 4 Miembro de la Fundación Chile.
- 5 Científicos del Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA), Universidad de Chile, Santiago, Chile.
- 6 Toda correspondencia y solicitud de reimpresos debe dirigirse al Profesor Enrique Yáñez, INTA, Universidad de Chile, Casilla 15138, Santiago 11, Chile.

la LTL mostró una digestibilidad tan alta como la del huevo (85.60/o y 85.00/o, respectivamente).

Los resultados obtenidos demuestran la factibilidad de emplear el proceso de cocción-extrusión en una fórmula de lupino-trigo y leche en las proporciones señaladas, como una nueva alternativa para el uso del lupino dulce en la alimentación humana, especialmente en programas alimentarios destinados a preescolares y escolares.

INTRODUCCION

En el área de la producción de alimentos de buena calidad nutricional y bajo costo, hace ya algún tiempo que se viene proponiendo el uso de mezclas proteínicas que, con una tecnología que puede ser de costo relativamente bajo, puedan emplearse para satisfacer las necesidades alimentarias de grandes grupos de poblaciones.

El lupino dulce (*Lupinus* sp) surge como una nueva alternativa en la elaboración de este tipo de alimentos, a juzgar por los avances que han tenido las investigaciones sobre esta leguminosa. Ello permite, por lo tanto, considerarla cada vez más con mejores expectativas en la alimentación humana (1).

Las semillas de los lupinos dulces tienen concentraciones de alcaloides inferiores a 0.090/o y no presentan problemas de toxicidad (2, 3).

La semilla de lupino tiene características nutricionales valiosas para la alimentación humana, por su alto contenido proteínico y de ácidos grasos insaturados (4-6).

Es importante señalar que no se han detectado niveles significativos de factores antinutricionales en la semilla de lupino (4), como ocurre en el caso de la soya (7).

La cocción-extrusión es una tecnología conveniente para tratar térmicamente los materiales crudos de origen vegetal, debido a que gelatiniza los almidones, desnaturaliza los inhibidores de crecimiento, mejora la digestibilidad y las características funcionales. Los costos de mantención y de operación resultan ser más bajos que otros métodos conocidos de cocción industrial (8).

El objetivo del presente trabajo fue desarrollar una mezcla proteínica compuesta de trigo-lupino dulce sometida a cocción-extrusión y leche, como una alternativa a los programas alimentarios destinados a preescolares y escolares.

MATERIAL Y METODOS

La harina de lupino dulce (*L. albus* cv Multolupa) (HL) se obtuvo del "Campo Experimental Semillas Baer" de Gorbea (Temuco, Chile). La harina de trigo candeal (*Triticum durum*) (HTC), y los otros ingredientes necesarios para la formulación de la mezcla, fueron adquiridos en el mercado local. La adición de vitaminas y minerales se realizó según la Norma Chilena para este tipo de alimentos (9). La composición de la mezcla lupino-trigo-leche (LTL) se muestra en la Tabla 1.

Se preparó una premezcla de harinas de lupino y trigo (1:1.375) la que se homogeneizó en una mezcladora de cinta con velocidad fija de

TABLA 1

COMPOSICION DE LA MEZCLA LUPINO—TRIGO—LECHE (LTL)
PROPUESTA COMO ALIMENTO INFANTIL

Ingredientes	Porcentaje (o/o)
Harina de lupino	20
Harina de trigo candeal	27.5
Leche en polvo 18 ^o /o M.G.	20
Sacarosa	23
Aceite (estabilizado) de maravilla	4
Cacao en polvo	4
Vitaminas y minerales	1.5
<i>Vitaminas</i>	
Tiamina (clorhidrato)	0.15 mg
Riboflavina	0.2 mg
Vitamina B ₁₂ (cristales)	2 mcg
Niacina (niacinamida)	2 mg
Acido fólico	0.2 mg
Acido ascórbido	20 mg
Retinol (palmitato hidrosoluble)	1,500 UI
Calciferon	400 UI
<i>Minerales</i>	
Yoduro de potasio	10 mcg
Calcio precipitado liviano (CaCO ₃)	0.3 g
Sulfato ferroso	10 mg

36 rpm. Se agregaron los antioxidantes BHT y ácido cítrico en proporción de 0.1^o/o cada uno, en base al contenido de materia grasa de la mezcla a extruir. La extrusión se hizo en un equipo Wenger X-25, hasta lograr 100 kilos de material extruido. El extrusor acondicionado para el proceso se alimentó con la premezcla a velocidad de 3,500 g por minuto; la humedad aplicada uniformemente fue de 15^o/o; la temperatura de extrusión fue de 145–150°C y la matriz Wenger utilizada constaba de dos orificios de 1/4 de pulgada. Los pellets resultantes se secaron sobre bandejas a temperatura ambiente de 22°C. Posteriormente se molieron, primero en un molino Rietz con mallas de 0.23 pulgadas, y después a grano fino, en un molino de púas Alpine-Kolloplex, Modelo P 16.

Finalmente, se agregó el resto de los ingredientes en una mezcladora de cinta con velocidad de 36 rpm. Para lograr la emulsificación adecuada del aceite adicionado a la mezcla final, se agregó 0.25^o/o de lecitina de huevo en polvo por cada 100 g de aceite.

Las materias primas y la mezcla LTL se sometieron a un análisis químico proximal que incluyó: humedad, cenizas, fibra cruda, proteína y extracto etéreo por métodos aprobados (10). El extracto no nitrogenado

se obtuvo por diferencia y el contenido energético por los factores de Atwater (4-9-4 para proteínas, lípidos e hidratos de carbono, respectivamente).

La composición aminoacídica, se determinó en una muestra hidrolizada con HCl 6*N* a 110°C por 22 horas. El hidrolizado se cromatografió en un analizador automático de aminoácidos Hitachi Perkin Elmer, Modelo KLA-3B, que trabaja en base al principio de Spackman, Stein y Moore (11).

La calidad biológica de la proteína de la harina de lupino, de harina de trigo candeal y de la mezcla LTL, se midió por el método de la razón de eficiencia proteínica (PER), de acuerdo al procedimiento de Chapman, Castillo y Campbell (12). En este estudio se utilizaron 10 ratas de 21-23 días de edad por tratamiento, las que se alojaron en jaulas metálicas individuales con fondo cribado. Los animales recibieron agua y dieta *ad libitum* durante cuatro semanas. La proteína en estudio se incorporó en la dieta al 100/o. Las dietas experimentales eran isoproteínicas e isocalóricas. Los animales se pesaron cada siete días y se registró su ingesta; como patrón se utilizó huevo en polvo. La composición de las dietas experimentales se detalla en la Tabla 2. Los ingredientes proteínicos, lupino, trigo y leche se presentan en forma conjunta y se le ha denominado premezcla LTL.

Se determinó también la digestibilidad aparente de la proteína de lupino, harina de trigo y de la mezcla LTL, para lo cual se recolectaron las deposiciones de cada rata durante las últimas tres semanas del ensayo biológico. En alícuotas de la muestra se determinó el contenido de nitrógeno según el método de Kjeldahl (10). Para el cálculo de este parámetro se utilizó la fórmula:

$$D = \frac{I - F}{I} \times 100$$

en la que I y F representan al nitrógeno ingerido y fecal, respectivamente.

RESULTADOS Y DISCUSION

La Tabla 3 muestra los resultados del análisis químico proximal de cada una de las materias primas y de la mezcla LTL propuesta como alimento infantil. Los resultados en las materias primas concuerdan con los valores encontrados por otros investigadores (5, 13).

Respecto a la mezcla se puede señalar que su bajo contenido de humedad (4.60/o), asegura estabilidad química y microbiológica al producto, bajo condiciones de envasado y almacenamiento estándares (14). El contenido calórico (427 kcal por 100 g) y el de proteína (18.70/o) son superiores al mínimo exigido en las Normas Chilenas para este tipo de alimentos infantiles (9).

En la Tabla 4 se observa el contenido de aminoácidos de las materias primas empleadas y en la mezcla LTL comparada con el patrón FAO/OMS 1973. La harina de lupino muestra claramente un bajo contenido en aminoácidos azufrados, característico de las leguminosas (6), acusando

TABLA 2

COMPOSICION DE LAS DIETAS EXPERIMENTALES DE HUEVO (1),
MEZCLA DE LUPINO-TRIGO-LECHE (2), HARINA DE TRIGO (3)
Y HARINA DE LUPINO (4)

Ingredientes (gramos)	Dietas			
	1	2	3	4
Huevo en polvo	19.7	—	—	—
Harina de lupino	—	—	—	27.2
Harina de trigo candeal	—	—	64.1	—
Premezcla LTL*	—	37.8	—	—
Aceite de girasol	1.5	5.6	7.5	6.8
Mezcla vitamínica ^a	1.0	1.0	1.0	1.0
Minerales ^b	4.0	4.0	4.0	4.0
Celulosa no nutritiva ^c	5.0	4.6	4.7	4.2
Maicena	68.8	30.9	18.7	56.8
Sacarosa	—	16.1	—	—

* Premezcla LTL: lupino, trigo y leche: 1:1.375:1.

a Según ref. 12.

b USP XVIII ICN Pharmaceutical. INC Life Sciences Group. Cleveland, Ohio.

c Alphacel ICN. Pharmaceutical. INC Life Sciences Group. Cleveland, Ohio.

TABLA 3

COMPOSICION QUIMICA DE LAS MATERIAS PRIMAS Y DEL ALIMENTO
INFANTIL (LTL)

Material	Humedad	Proteínas	Extracto etéreo	Fibra cruda	Cenizas	ENN ^a
Harina de lupino	6.1	38.4 ^b	13.1	3.4	3.8	35.2
Harina de trigo candeal	7.8	15.2 ^c	4.0	1.0	2.2	69.8
Leche (18% o M. G.)	2.7	28.6 ^d	17.5	—	6.7	44.5
Cacao en polvo	4.1	26.5 ^b	11.9	5.2	8.1	44.2
LTL	4.6	18.7 ^b	12.5	1.0	3.3	59.9

* Calorías LTL: 427 kcal/100 g.

a Por diferencia.

b N x 6.25.

c N x 5.7.

d N x 6.38.

TABLA 4

COMPOSICION AMINOACIDICA DE LAS MATERIAS PRIMAS, DE LA
MEZCLA LTL SUGERIDA COMO ALIMENTO INFANTIL, Y
COMPARACION PATRON FAO/OMS (1973)

Aminoácidos	HL ¹	HTC ²	LTL ³ mg aminoácidos/g N	Patrón ⁴
<i>Esenciales</i>				
Isoleucina	256	169	262	250
Leucina	268	377	446	440
Lisina	269	142	338	340
Metionina	31	67	66	
Cistina	75	110	42	220
Fenilalanina	244	644	238	
Tirosina	300	164	209	380
Treonina	256	155	211	250
Triptofano	—	—	—	60
Valina	225	244	285	310
<i>No esenciales</i>				
Acido aspártico	594	284	495	
Acido glutámico	1350	1911	1377	
Alanina	206	202	297	
Arginina	573	316	513	
Glicina	225	205	177	
Histidina	—	—	—	
Prolina	269	578	516	
Serina	306	328	305	

1 FAO/OMS (1973); HL = Harina de lupino.

2 HTC = Harina de trigo candeal.

3 LTL = Lupino, trigo, leche (sugerido como alimento infantil).

4

un contenido de cistina dos veces mayor que el de metionina. La combinación de estos dos aminoácidos se perfila también como el primer limitante, comparado con las recomendaciones descritas. En cuanto a la harina de trigo candeal, ésta presenta una marcada deficiencia en lisina, común a todos los cereales, pero también es limitante en treonina, metionina + cistina, isoleucina y valina. Al parecer, la mezcla LTL es suficiente en todos los aminoácidos esenciales, excepto los azufrados, en relación con el patrón. La deficiencia de un 50% de metionina + cistina, podría deberse a una destrucción parcial de estos aminoácidos durante el proceso de hidrólisis en la determinación química (15).

El valor de PER para la dieta con la mezcla LTL fue de 2.6 vs 2.8 para la proteína control, no habiendo diferencia significativa ($P > 0.05$). La baja calidad de las proteínas de lupino y trigo candeal individualmente se

confirmó en este estudio (PER 1.7 y 1.3, respectivamente), y los dos sí difieren significativamente de la proteína control ($P < 0.01$). Otros investigadores han comunicado valores similares para lupino (4-6). El aumento en el valor de la eficiencia proteínica de la mezcla LTL, se explica por el mejoramiento del cómputo aminoacídico de la mezcla, ya que el lupino y la leche hacen una importante contribución de lisina al cereal.

Debe destacarse la alta digestibilidad de la proteína de la dieta con la mezcla LTL, que resultó ser igual a la del patrón de huevo (Tabla 5).

TABLA 5

CALIDAD BIOLÓGICA DE LA PROTEÍNA DE LA MEZCLA LTL, HARINA DE LUPINO (HL) Y HARINA DE TRIGO CANDEAL (HTC), MEDIDA COMO RAZÓN DE EFICIENCIA PROTEÍNICA (PER) Y DIGESTIBILIDAD

Proteína	Ganancia de peso g	Ingesta g	PER	Digestibilidad
LTL	111.9 ± 17.1*	436.8 ± 39.2*	2.6 ± 0.2 ^a *	85.6 ± 6.2*
HL	63.9 ± 8.9	355.4 ± 23.4	1.7 ± 0.3 ^b	81.5 ± 2.4
HTC	27.9 ± 7.2	206.4 ± 34.4	1.3 ± 0.2 ^c	71.8 ± 7.8
Huevo en polvo	85.9 ± 17.4	295.7 ± 37.9	2.8 ± 0.4 ^a	85.0 ± 2.4

Peso inicial \bar{x} = 53.3 g ± 2.3 g.

Las letras distintas indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

* Los valores están expresados como media aritmética ± desviación estándar.

Los resultados obtenidos en este estudio sugieren que la calidad nutricional de este alimento infantil en polvo, en base a lupino dulce y trigo, encuadra dentro de las Normas Chilenas y del Codex Alimentario FAO/OMS (16), y podría ser utilizado para incluirlo en programas de alimentación destinados al niño preescolar y escolar. El empleo de mezclas proteínicas en base a mezclas de proteínas vegetales, con o sin leche, ha sido un procedimiento aplicado frecuentemente en diversas regiones del mundo y, especialmente en América Latina. Un ejemplo relevante ha sido el caso de la Incaparina en Guatemala. Para el éxito de los programas respectivos es muy importante que se utilicen recursos locales con el objeto de mantener bajo el precio de los productos desarrollados. Aquellos países en los que se cultiva la soya, tienen a su favor un producto de excelente calidad proteínica y calórica. En cambio, aquéllos que no disponen de soya pueden emplear otras fuentes de proteína vegetal, las que en combinaciones adecuadas dan origen a productos de excelente valor nutritivo. Tal es el caso de Chile, donde el lupino dulce constituye un recurso con gran potencialidad de expansión que podría reemplazar sin desmedro a la soya, en la formulación de alimentos para preescolares y escolares, así como también en suplementos proteínicos para embarazadas y nodrizas.

SUMMARY

DEVELOPMENT AND CHEMICAL AND NUTRITIONAL EVALUATION
OF AN INFANT FOOD BASED ON SWEET LUPIN, WHEAT AND MILK

This paper deals with the development of a food for infants and young children based upon a mixture of 27.50/o wheat flour, 200/o sweet lupin flour and 200/o powdered milk (GL) (180/o fat content) with added vitamins and minerals. The blend of wheat and lupin flour was processed in an extrusion-cooker (Wenger X 25) before mixing with the other ingredients.

The proximate chemical analysis performed on the wheat-lupin-milk blend (LTL) showed 18.70/o protein and 12.50/o fat with a calculated caloric value of 427 kcal/100 g. Amino acid analysis indicated a deficiency of methionine + cystine and of threonine in the blend. Nevertheless, studies with rats on the biological quality of the protein, such as protein efficiency ratio and apparent digestibility, revealed that this blend was as good as the reference diet (powdered egg). It is therefore felt that the LTL blend may be a useful substitute in food programs directed to infants and school children.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Dr. Ernesto Guzmán su valiosa ayuda en la preparación y revisión de este manuscrito; a la Sra. Viola Lyon, su excelente labor mecanográfica del mismo, y al Sr. Erik von Baer, su generosa contribución del material empleado en este estudio.

BIBLIOGRAFIA

1. Aguilera, J. M. & A. Trier. The revival of the lupin. *Food Technol.*, **32**: 70-76, 1978.
2. Ballester, D., M. T. Saitúa, O. Brunser, J. I. Egaña, D. F. Owen & E. Yáñez. Evaluación toxicológica del lupino dulce. I. Estudio de ratas alimentadas durante nueve meses con *Lupinus albus* var Multolupa. *Rev. Chil. Nutr.*, **10**: 177-191, 1982.
3. Ballester, D., O. Brunser, M. T. Saitúa, J. I. Egaña, E. Yáñez & D. F. Owen. Safety evaluation of sweet lupin (*Lupinus albus* cv Multolupa). II. Nine-month feeding and multigeneration study in rats. *Fd Chem. Toxic.*, **22**: 45-48, 1984.
4. Hill, G. D. The composition and nutritive value of lupin seed. *Nutr. Abstr. Revs.*, **47**: 511-529, 1977.
5. Yáñez, E., V. Gattás & D. Ballester. Valor nutritivo del lupino y su potencial como alimento humano. *Arch. Latinoamer. Nutr.*, **29**: 510-520, 1979.
6. Yáñez, E., D. Ivanović, D. F. Owen & D. Ballester. Chemical and nutritional evaluation of sweet lupines. *Ann. Nutr. Metab.*, **27**: 513-520, 1983.
7. Anderson, R. L., J. J. Rackis & W. H. Tallent. Biologically active substances in soy products. In: *Soy Protein in Human Nutrition*. H. L. Wilcke, D. T. Hopkins, and D. H. Waggle (Eds.). New York, N. Y., Academic Press, Inc., 1979, p. 209-233.
8. Johnston, J. L. Technical and practical processing conditions with single screw cooking extruder. Seminar on cooking and extruding techniques, Germany, 1978. In: *Anales del Seminario sobre Extrusión-Cocción de Alimentos en Amé-*

- rica Latina. Santiago, INTEC/OEA (1), 14, 1979.
9. Ministerio de Salud de Chile. **Central de Abastecimiento del Sistema Nacional de Servicios de Salud**. Propuesta Pública 32/81 (Especificaciones Técnicas). Santiago, Chile. 1981.
 10. Association of Official Analytical Chemists. **Official Methods of Analysis of the AOAC**. 11th ed. Washington, D. C., The Association, 1970.
 11. Spackman, D. H., W. H. Stein & S. Moore. Automatic recording apparatus for use in the chromatography of amino acids. *Anal. Chem.*, **30**: 1190-1206, 1958.
 12. Chapman, D. G., R. Castillo & J. A. Campbell. Evaluation of protein in foods. I. A method for the determination of protein efficiency ratios. *Can. J. Biochem. Physiol.*, **37**: 679-686, 1959.
 13. Schmidt-Hebbel, H. e I. Pennacchiotti. **Tabla de Composición Química de Alimentos Chilenos**. 7a. ed. Santiago, Chile, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad de Chile, 1985.
 14. Troller, J. & J. H. B. Christian. **Water Activity and Food**. New York, N. Y., Academic Press, Inc., 1978.
 15. Friedman, M. & A. T. Noma. Methods and problems in chromatographic analysis of sulfur amino acids. In: **Protein Nutritional Quality of Foods and Feeds**. Part 1. Mendel Friedman (Ed.). New York, N. Y., Marcel Dekker, Inc., 1975, p. 251-548.
 16. FAO/OMS. **Normas Internacionales Recomendadas para Alimentos para Niños de Pecho y Niños de Corta Edad**. Roma, 1976.

PROTEINAS DE LUPINO DULCE (*Lupinus luteus*, var. Aurea/Weico, y *Lupinus albus*, var. Multolupa). I. EXTRACCION Y FILTRACION POR SEPHADEX¹

Magaly Vásquez², Enrique Knapp³, Ernesto Guzmán⁴ e
Isabel Zacarías⁵

Universidad de Chile
Santiago, Chile

RESUMEN

Las investigaciones de índole nutricional realizadas en la harina de lupino en Chile, han motivado el tener un conocimiento más a fondo de las proteínas de esta leguminosa. Las especies sometidas a estudio fueron *Lupinus luteus* var. Aurea/Weico y *Lupinus albus* var. Multolupa. A estas especies se les extrajeron y fraccionaron las proteínas, determinándose la distribución porcentual de globulinas y albúminas. Las semillas descascaradas, previo análisis proximal, se molieron, desgrasaron y extrajeron sucesivamente con agua destilada a un pH de 5.0, con solución amortiguadora de fosfato 0.05 M, pH 8.5. Las proteínas extraídas se determinaron según el método de Lowry simplificado. Las globulinas (pH 8.5) de ambos lupinos se filtraron por Sephadex G-100 y las del *L. albus* se filtraron además por Sephadex G-150; a las fracciones colectadas se les midió la absorbancia a 280 nm. Las semillas descascaradas (SD) de *L. luteus* y de *L. albus* evidenciaron un contenido de proteínas de 58.2 y 41.0%, respectivamente.

Manuscrito modificado recibido: 6-5-88.

- 1 Esta investigación fue financiada por el Departamento de Investigación y Bibliotecas (DIB) de la Universidad de Chile, mediante la subvención B-1035.
- 2 Profesor Titular, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Departamento de Agroindustria y Tecnología de Alimentos, Universidad de Chile, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA).
- 3 Tesista, Carrera de Ingeniero Agrónomo, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Universidad de Chile.
- 4 Profesor Asistente, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA), Universidad de Chile.
- 5 Toda correspondencia y solicitud de reimpresos debe dirigirse a la Dra. Isabel Zacarías, Ayudante 1º, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA), Universidad de Chile, Casilla 15138, Santiago 11, Chile.

Como resultado del análisis de las proteínas extraídas de harina desgrasada, el *L. luteus* mostró un 17.00/o de albúminas y 58.40/o de globulinas; en cambio, el *L. albus* presentó un porcentaje más alto de albúmina (55.60/o) y globulinas (31.50/o). A su vez la filtración de los globulinas por el Sephadex mostró en ambas especies de lupino un pico I preponderante, el cual en el *L. luteus* correspondió a 55.00/o y en el *L. albus* a 84.10/o del contenido total de globulinas.

De lo anterior, es posible concluir que la semilla descascarada de *L. luteus* acusa un 42.00/o más de proteína que la semilla de *L. albus*. La metodología aplicada señala un predominio de las globulinas sobre las albúminas en el *L. luteus*; no así en el *L. albus*, donde el porcentaje de albúminas es mayor.

INTRODUCCION

El consumo de leguminosas de grano asegura un aporte de calorías y proteínas que adquiere más relevancia en los países en desarrollo, ya que ayuda a cubrir los requerimientos nutricionales humanos (1).

En Chile, aparte de las leguminosas tradicionales (poroto, lenteja, arveja y garbanzo) se ha introducido el cultivo del lupino dulce que por su resistencia al frío, se puede cultivar en la zona sur del país (desde Ñuble hasta Osorno) donde por razones de clima y suelo, no prosperan otras leguminosas (2).

En los últimos años se han realizado numerosas investigaciones tendientes a conocer las posibilidades de utilización del lupino dulce, tanto en la alimentación humana como animal. Diversos autores han informado acerca de las características del cultivo, composición química, toxicidad y valor biológico de esta leguminosa (3-8). Sin embargo, se nota una deficiencia en lo que respecta a la caracterización de las proteínas en lo que a la relación con el fraccionamiento y separación de esta molécula concierne. De ahí que los objetivos del presente trabajo fueron:

1. Lograr un mayor conocimiento de las proteínas constituyentes de dos especies de lupino dulce cultivados en Chile.
2. Establecer mediante el fraccionamiento de las proteínas, la distribución porcentual de globulinas y albúminas.

MATERIAL Y METODOS

Las semillas de lupino dulce analizadas en el presente estudio correspondían a dos especies (*L. luteus* var. Aurea/Weico y *L. albus* var. Multolupa), procedentes del Campo Experimental Semillas Baer de Gorbea, IX Región.

Se efectuó un análisis proximal (humedad, cenizas, proteínas, extracto etéreo y fibra cruda) según los métodos establecidos por la AOAC (9), a las semillas de lupino enteras y descascaradas en forma manual.

En la Figura 1 se esquematiza el método seguido para extraer y fraccionar las proteínas de ambas especies de lupino. Se inició la extracción con las semillas descascaradas, molidas y desgrasadas en Soxhlet con n-pentano (p. eb. 36.10°C). La molienda se llevó a cabo en un molino Thomas-Wiley provisto de criba No. 80.

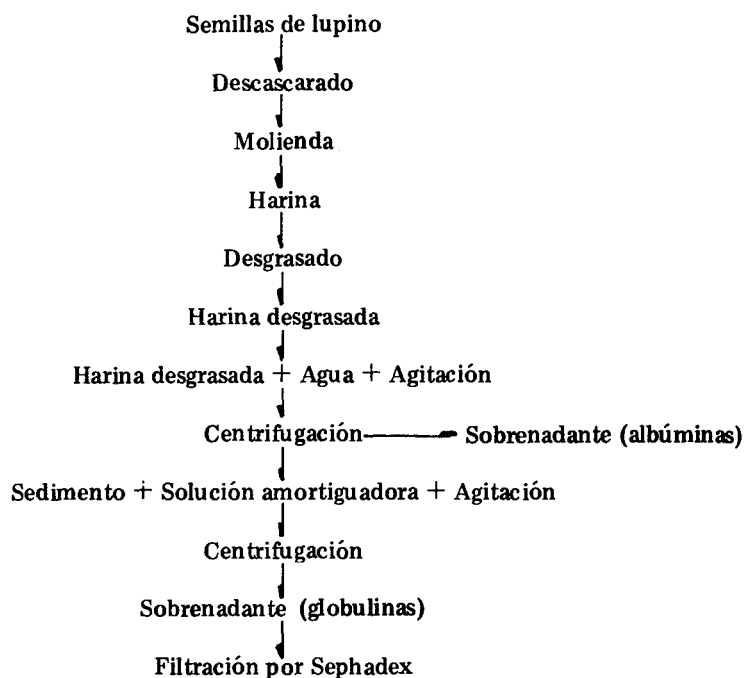


FIGURA 1

Diagrama de extracción y filtración de proteínas de lupino

Extracción de Proteínas

Las albúminas se separaron por centrifugación. Para ello, la harina desgrasada se adicionó con agua destilada pH 5.0 en la proporción 1:20 (p/v), y se agitó una hora en agitador Vortex (10). Luego la suspensión se centrifugó por 30 min a 10,000 rpm. en una centrífuga MSE High Speed 18. A continuación se retiró el sobrenadante cuidadosamente y las proteínas contenidas en él se determinaron por el método de Lowry simplificado (11).

Para la separación de las globulinas el sedimento de la centrifugación anterior se suspendió en solución amortiguadora de fosfato 0.05 M, pH 8.5 en la proporción 1:20 (p/v) y se agitó durante una hora, centrifugándose a 10,000 rpm durante 30 minutos (12). Las globulinas extraídas se determinaron según el método de Lowry simplificado (11).

Filtración por Sephadex

Del extracto de globulinas, se tomó una alícuota de 2 ml, la que se filtró a través de columna Sephadex G-100 (2 x 60 cm) equilibrada con solución amortiguadora de fosfato 0.05 M, pH 8.5. Esta misma solución

amortiguadora se empleó para eluir las globulinas, colectándose 50 fracciones de 3 ml cada una, que se leyeron a 280 nm en espectrofotómetro Perkin-Elmer Coleman 124. Las lecturas de absorbancia se graficaron versus el número de fracción. Además, las fracciones correspondientes a cada pico se mezclaron para determinar su contenido de proteína (11). El Sephadex G-100 fracciona proteínas globulares que van desde un peso molecular de 4,000 hasta 150,000 (13).

Dado que el fraccionamiento de las globulinas del *Lupinus albus* var. Multolupa no fue suficientemente concluyente, se realizó una nueva filtración del extracto de globulinas de esta especie. Se utilizó una columna de Sephadex G-150 (2 x 80 cm) equilibrada con una solución amortiguadora de fosfato 0.05 M, pH 8.5. Se colectaron 100 fracciones de 3 ml cada una y se leyó su absorbancia a 280 nm. En este ensayo a cada fracción colectada se le determinó el contenido de proteína (11). El Sephadex G-150 fracciona proteínas globulares cuyo peso molecular cubre desde 5,000 hasta 400,000 (13).

Análisis Estadístico

Cada unidad experimental se eligió al azar y consistió en 250 g de semillas de lupino de ambas especies. Se hicieron cuatro repeticiones, y las posibles diferencias entre las especies para cada variable se midieron a través de la prueba "t" de Student para la diferencia de medias, y pruebas Z de comparación entre proporciones para los resultados expresados en porcentajes (14).

RESULTADOS Y DISCUSION

La Tabla 1 expone la composición química proximal de las dos especies de lupino dulce, en el cual se destaca el alto contenido de proteínas de esta leguminosa, hecho que coincide con lo informado por Rosa (15), Hill (16) y Aguilera y Trier (17).

En cuanto al extracto etéreo, se puede observar que a un mayor porcentaje de éste, menor el porcentaje de proteínas (12.90/o vs 33.40/o y 5.60/o vs 45.80/o) en el *Lupinus albus* y *Lupinus luteus*, respectivamente.

El fraccionamiento de las proteínas (Tabla 2) reveló una distribución de 170/o para albúminas y 58.40/o para globulinas en el *L. luteus*. A diferencia del caso anterior, el *L. albus* acusó un mayor contenido de albúminas (55.60/o) y un menor contenido de globulinas (31.50/o). Ambas especies difieren estadísticamente entre sí ($P < 0.001$) en cuanto al contenido de albúminas y globulinas.

En los lupinos estudiados quedó un porcentaje de proteína sin extraer, siendo éste de 24.60/o en el *L. luteus* y de 12.90/o en el *L. albus*. Es importante señalar que el método Kjeldahl utilizado en la determinación de proteínas considera el nitrógeno total, por lo que el contenido de proteínas de la harina desgrasada estaría sobrevalorado. En cambio, para determinar el contenido de proteína extraída, se utilizó el método de Lowry *et al.* (11) que determina la proteína como tal. Por esta razón, la proteína retenida podría atribuirse en parte a nitrógeno no proteínico

TABLA 1

COMPOSICION QUIMICA DE DOS ESPECIES DE LUPINO DULCE, EN SEMILLA ENTERA (SE) Y SEMILLA DESCASCARADA (SD)

Especie		Humedad (g/100 g)	Cenizas	g/100 g peso seco			
				Proteínas (N x 6.25)	Extracto etéreo	Fibra cruda	Extracto no nitrogenado*
<i>Lupinus luteus</i> var. Aurea Weico	SE	13.4	4.0	45.8	5.6	14.7	29.9
	SD	11.2	4.8	58.2	6.3	1.8	28.9
<i>Lupinus albus</i> var. Multo- lupa	SE	15.9	3.7	33.4	12.9	11.3	38.7
	SD	12.7	3.9	41.0	13.4	1.6	40.1

* Por diferencia.

TABLA 2

FRACCIONAMIENTO DE PROTEINAS DE *Lupinus luteus* var. Aurea/Weico Y *Lupinus albus* var. Multolupa

Especie	Proteína de la har. desgrasada (mg)	Proteína extraída (mg)	Porcentaje extraído (%)
<i>L. luteus</i> var. Aurea/Weico	173.5 ± 0.97*		
Albúminas		29.5 ± 1.14	17.0
Globulinas		101.3 ± 5.57	58.4
Total		130.8	75.4
<i>L. albus</i> var. Multolupa	122.6 ± 0.01		
Albuminas		68.2 ± 10.31	55.6
Globulinas		38.6 ± 7.27	31.5
Total		106.8	87.1

* Media ± DE.

(aminoácidos, dipéptidos y otros compuestos de bajo peso molecular) según lo informado por Wiewiorowski *et al.*, citados por Hill (16).

Los trabajos recientes sobre estudios de proteínas de *L. luteus* no han puesto el énfasis en el contenido de albúminas y globulinas de esta especie. Hill (16) hace notar que la cantidad de globulinas es superior a la de albúminas.

Con respecto al *L. albus*, Cerletti y Restani (18), y Duranti, Restani y Cerletti (19, 20), han encontrado que las globulinas representan alrededor del 80% y las albúminas el 13% de las proteínas totales. En cambio, Oomah y Bushuk (21), aplicando una metodología similar a la utilizada en este estudio, informan un contenido mayor de albúminas (70%) que de globulinas (20%), valores que se aproximan a los obtenidos en esta investigación (Tabla 2).

La comparación de resultados de fraccionamiento proteínico presenta dificultades, debido a que en los estudios realizados se han empleado distintos solventes, agentes de precipitación, tiempo y temperatura de extracción en las especies de lupino analizadas.

En la Tabla 3 se aprecia que la filtración de las globulinas de ambas especies de lupino, a través de Sephadex G-100, evidencia el fraccionamiento de estas proteínas en tres picos para el caso del *L. luteus* donde el pico I revela el mayor contenido de globulina, equivalente a 18.6 ± 1.99 mg (55.0%). Le sigue en orden de importancia el pico II, con 12.2 ± 0.89 mg (36.1%) y por último, el pico III que es menos relevante porque acusa un 2.7% del total. Dado que el Sephadex G-100 fracciona proteínas globulares cuyo peso molecular está entre 4,000 hasta 150,000, el hecho que el pico I haya eluido entre los tubos 9 y 17 hace suponer que el 55% de las globulinas del *L. luteus* presenta un peso molecular superior a los 150,000.

TABLA 3

DISTRIBUCION DE LAS GLOBULINAS DE *L. luteus* var. Aurea/Weico Y
L. albus var. Multolupa, A TRAVES DE SEPHADEX G-100

Especie	Globulina inicial (mg)	Globulina fraccionada (mg)	o/o
<i>L. luteus</i> var. Aurea/Weico	$33.8 \pm 1.85^*$		
Pico I		18.6 ± 1.99	55.0
Pico II		12.2 ± 0.89	36.1
Pico III		0.9 ± 0.11	2.7
<i>L. albus</i> var. Multolupa	13.2 ± 2.05		
Pico I		11.1 ± 2.60	84.1
Pico III		0.7 ± 0.07	5.3

* Media \pm DE.

En cuanto al *L. albus* se presenta también un pico I preponderante que representa 84.1% del total de las globulinas. No hay elución de las proteínas entre los tubos 17 y 29; por lo tanto, no se evidencia el pico II, al inverso del caso anterior. En lo que respecta al pico III, éste contiene 0.7 ± 0.07 mg de globulina.

La ausencia del pico II en el *L. albus*, en las globulinas eluidas del Sephadex G-100 motivó una segunda filtración de las globulinas a través de Sephadex G-150, cuyo resultado se ilustra en la Figura 2. En ella se observa nuevamente que gran parte de las globulinas eluyen en el pico I (tubos 20 al 35), demostrando que escurren rápidamente entre las partículas del Sephadex, por lo que su peso molecular sería vecino o superior a 400,000. A continuación aparece un pico muy bajo en contenido proteínico (tubos 49 al 82) que, por su ubicación y proteínas correspondería al pico III. Las fracciones colectadas entre los tubos 36 al 48 demostraron ausencia de globulina, por lo que no se evidenció el pico II en esta especie de lupino.

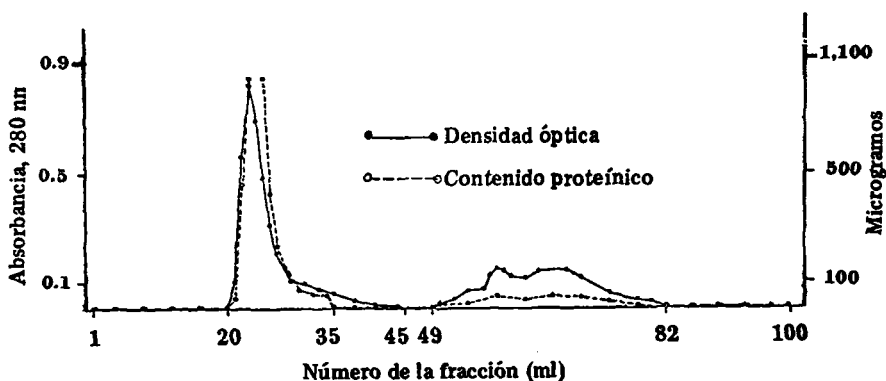


FIGURA 2

Filtración de globulinas de *Lupinus albus*, var. Multolupa, a través de Sephadex G-150, pH 8.5

Otros autores como Joubert (22) y Sgarbieri y Galeazzi (23) trabajando con *L. albus* lograron separar también las globulinas en dos picos, aunque Joubert utilizó un procedimiento distinto sobre la base de precipitación con sulfato de amonio y ultracentrifugación.

En base a los resultados obtenidos en el trabajo objeto de este artículo, se puede concluir que la leguminosa estudiada tiene un porcentaje superior de proteínas, en comparación con las leguminosas tradicionales chilenas.

De ambas especies analizadas, el *L. luteus* presenta un 37% más de proteínas en la semilla entera que el *L. albus*.

La metodología empleada señala un predominio de las globulinas sobre las albúminas en el *L. luteus*, no así en el *L. albus*, donde el caso es inverso.

La filtración a través de Sephadex permite una primera separación de las globulinas, y muestra el pico I como el más preponderante en ambas especies de lupino.

SUMMARY

SWEET LUPINE (*Lupinus luteus*, var. Aurea/Weico AND *Lupinus albus*, var. Multolupa) PROTEINS. I. EXTRACTION AND FILTRATION BY SEPHADEX

Samples of *Lupinus luteus*, var. Aurea/Weico and *Lupinus albus* var. Multolupa flours were analyzed. The flour proteins were extracted and fractionated by gel filtration, and the per cent pattern for both globulins and albumins was then determined. The dehulled seeds, previously analyzed for composition, were ground, defatted and consecutively extracted with distilled water (pH 5.0) and phosphate buffer (0.05 M, pH 8.5). The extracted protein content was measured by the Lowry simplified method. Globulins (pH 8.5 fraction) from both species were filtered through Sephadex G-100; besides, *Lupinus albus* globulins were filtered through Sephadex G-150, and absorbance of the collected fractions was measured at 280 nm. The dehulled seed (DS) of *L. luteus* and *L. albus* revealed a good protein content (58.2 and 41.0%, respectively). The protein extracted from *L. luteus* was constituted by 17% albumins and 58.4% globulins. In contrast, *L. albus* presented a higher albumin content (55.6%) than globulins (31.5%). The elution pattern for the Sephadex G-200 gel filtration showed for both lupine species analyzed a preponderant peak I corresponding in *L. luteus* to 55.0% and in *L. albus* to 84.1% of the total globulins content. From these results, it may be concluded that the dehulled seed protein content is 42.0% higher for the *L. luteus* sample than for the *L. albus*. The applied methodology indicated a predominant content of globulins above albumins in *L. luteus*, while in the case of *L. albus*, the albumin content was the highest.

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan su sincero agradecimiento a la Srta. Pilar Gómez y a la Sra. Eugenia Orrego por su valiosa colaboración en la realización de este estudio, y a la Sra. Viola Lyon por la excelente labor secretarial en la confección de este manuscrito.

BIBLIOGRAFIA

1. Haytowitz, D., A. C. Marsh & R. H. Matthews. Content of selected nutrients in raw, cooked, and processed legumes. *Food Technol.*, **35**: 73-74, 1981.
2. Castro, E. Lupino: Cultivo y utilización. *El Campesino*, **CIX(8)**: 24-42, 1978.
3. Cross, R. & E. von Baer. Posibilidades del *Lupinus mutabilis* y *Lupinus albus* en los países andinos. *Arch. Latinoamer. Nutr.*, **27**: 451-471, 1977.

4. Fundación Chile. **Situación, Análisis y Perspectivas del Lupino en Chile.** Reunión de Trabajo 1-2 Dic. Santiago, 117 pp.
5. Ballester, D., M. T. Saitúa, O. Brunser, J. I. Egaña, D. F. Owen & E. Yáñez. Evaluación toxicológica del lupino dulce. I. Estudio en ratas alimentadas durante 9 meses con *Lupinus albus*, var. Multolupa. *Rev. Chil. Nutr.*, 10: 177-191, 1982.
6. Oliva, P. & D. Ballester. Composición química y calidad biológica de leguminosas precocidas de consumo habitual en Chile (lentejas, porotos, garbanzos) y su complementación con harina de lupino dulce. *Rev. Chil. Nutr.*, 12: 51-56, 1984.
7. Gardiman, G. & D. Ballester. Fideos enriquecidos con harina desgrasada de lupino dulce. (*L. albus* cv Multolupa). I. Aspectos reológicos y nutricionales. *Rev. Chil. Nutr.*, 12: 91-96, 1984.
8. Zacarías, I., E. Yáñez, H. Araya & D. Ballester. Evaluación sensorial y estudio de aceptabilidad, a nivel de consumidor de pan suplementado con harina de lupino dulce. *Arch. Latinoamer. Nutr.*, 35: 119-129, 1985.
9. Association of Official Analytical Chemists. **Official Methods of Analysis of the AOAC.** 13th ed. Washington, D. C., The Association, 1980.
10. Cerletti, P., A. Fumagalli & D. Venturin. Protein composition of seeds of *Lupinus albus*. *J. Food Sci.*, 43: 1409-1414, 1978.
11. Peterson, G. L. A simplification of the protein. Assay Method of Lowry *et al.* Which is more generally applicable. *Analytical Biochem.*, 83:346-356, 1977.
12. Ruiz, L. P. & E. L. Have. Conditions affecting production of a protein isolate from lupin seed kernels. *J. Sci. Food Agric.*, 27: 667-670, 1976.
13. Pharmacia Chemicals. **Sephadex Gel Filtration in Theory and Practice.** Uppsala Sweden, Upplands Grafiska AB, 1975, 65 p.
14. Steel, R. G. & G. H. Torrie. **Principles and Procedures of Statistics with Special Reference to the Biological Sciences.** New York, N. Y., McGraw Hill Book, 1960, 481 p.
15. Rosa, J. *Lupinus luteus*, variedad Aurea como sustituto parcial de la harina de pescado para cerdos en crianza-engorda. *Agric. Tec.*, 34: 158-160, 1974.
16. Aguilera, J. M. & A. Trier. The revival of the lupin. *Food Technol.*, 32(8): 70-76, 1978.
17. Hill, G. D. The composition and nutritive value of lupin seed. *Nutr. Abstr. Revs.*, B 47(8): 511-529, 1977.
18. Cerletti, P. & P. Restani. The glycoprotein component of seed globulins in *Lupinus albus*. *Italian J. Biochem.*, 23: 319-320, 1979.
19. Duranti, M., P. Restani & P. Cerletti. Associazioni oligomeriche nelle globuline di *Lupinus albus*. En: 26º Congresso Nazionale Società Italiana Biochimica. Bologna, 1980, 186 p.
20. Duranti, M., P. Restani, M. Poniatowska & P. Cerletti. The seed globulins of *Lupinus albus*. *Phytochemistry*, 20: 2071-2075, 1981.
21. Oomah, B. D. & W. Bushuk. Characterization of lupine proteins. *J. Food Sci.*, 48: 38-41, 1983.
22. Joubert, F. J. Lupin seed proteins, a physico-chemical study of the proteins from white lupin seed (*Lupinus albus*). *Biochem. Biophys. Acta*, 19: 172-173, 1956.
23. Sgarbieri, V. C. & M. A. Galeazzi. Some physico-chemical and nutritional properties of a sweet lupin (*Lupinus albus*, var. Multolupa) protein. *J. Agric. Food Chem.*, 26: 1438-1442, 1978.

PROTEINAS DE LUPINO DULCE (*Lupinus luteus* var. Aurea/Weico,
Y *Lupinus albus* var. Multolupa). II. SEPARACION POR
ELECTROFORESIS¹

Isabel Zacarías², Enrique Knapp³, Ernesto Guzmán⁴ y
Magaly Vásquez⁵

Universidad de Chile
Santiago, Chile

RESUMEN

En este estudio se analizaron las albúminas y globulinas extraídas del *Lupinus luteus* var. Aurea/Weico y *Lupinus albus* var. Multolupa mediante la técnica de electroforesis en gel de poliacrilamida. El propósito fue el de determinar la distribución porcentual de albúminas y globulinas de las proteínas en los electroforetogramas, con su consiguiente caracterización, según su movilidad.

El densitograma de las albúminas del *L. luteus* evidenció seis fracciones de las cuales las fracciones 2 y 4 contribuyeron con 58.1%. En cuanto a las globulinas, el densitograma reveló cinco fracciones de las cuales las fracciones 1, 2 y 3 contribuyeron con 90.7%. El densitograma de las globulinas eluidas en el pico I a través de Sephadex G-100, reveló dos fracciones que guardaron semejanza con las fracciones 1 y 2 de las globulinas totales y cuya movilidad relativa dio valores bajos comprendidos entre 0.26 y 0.39. Las albúminas del *L. albus* se resolvieron en cuatro fracciones, siendo la más representativa la fracción 2, con 54.3%. Respecto al fraccionamiento de las globulinas, se obtuvieron cinco fracciones que coincidieron en su distribución con las globulinas del pico I, acusando la fracción 2 la mayor contribución (48.2%). Se

Manuscrito modificado recibido: 6-5-88.

- 1 Esta investigación fue financiada por el Departamento de Investigación y Bibliotecas (DIB) de la Universidad de Chile, mediante la subvención 1035.
- 2 Toda correspondencia y solicitud de reimpresos debe dirigirse a la Dra. Isabel Zacarías, Ayudante 1º, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA), Universidad de Chile, Casilla 15138, Santiago 11, Chile.
- 3 Tesista, Carrera de Ingeniero Agrónomo, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Universidad de Chile.
- 4 Profesor Asistente, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA), Universidad de Chile.
- 5 Profesor Titular, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Universidad de Chile.

evidenció que el Sephadex G-100 no lograba una buena separación. En cuanto a la movilidad electroforética de estas globulinas, se destacaron las fracciones 2 y 3, con movilidades de 0.35 y 0.48.

A partir de este trabajo, se puede concluir que las albúminas del *L. luteus* que presentan un mayor número de fracciones son de menor movilidad relativa que las albúminas del *L. albus*. En cuanto a las globulinas de ambas especies de lupino, éstas se caracterizan por presentar agrupaciones de baja y alta movilidad, respectivamente.

INTRODUCCION

En Chile se ha desarrollado desde 1956, en el Campo Experimental "Semillas Baer" (Gorbea), un importante programa de lupino que comprende estudios genéticos y agronómicos. De dichas investigaciones han derivado los lupinos dulces tales como la variedad Aurea (*L. luteus*) y la variedad Multolupa (*L. albus*) que se caracterizan por la ausencia de amargor debida al bajo contenido de alcaloides. El cultivo del lupino se lleva a cabo con éxito en la zona austral (36-41° latitud Sur) especialmente en el sector agrícola minifundista (1, 2).

El alto contenido de proteínas (28-40%) (3) ha servido de motivo a diversos investigadores para obtener y caracterizar concentrados y aislados proteínicos (4, 5). Juntamente con estos estudios se han realizado otras investigaciones que caracterizan las proteínas del lupino (6-10).

Dado que en Chile se han determinado las propiedades funcionales de los aislados proteínicos, este estudio se orientó hacia el análisis de las proteínas de lupino (11).

Los objetivos del estudio fueron dos:

1. Determinar la distribución porcentual de albúminas y globulinas por electroforesis.
2. Caracterizar las albúminas y globulinas según su movilidad electroforética.

MATERIAL Y METODOS

Electroforesis

Las proteínas de los picos I y II del *L. luteus* var. Aurea/Weico y del pico I del *L. albus* var. Multolupa obtenidos de la elución a través de una columna de Sephadex G-100, de las albúminas y globulinas extraídas a partir de harina desgrasada, según lo descrito por Vásquez *et al.* (12), se resolvieron por electroforesis en gel de poliacrilamida al 5.15%. Las albúminas y globulinas extraídas fueron sometidas a este mismo procedimiento. Dicha resolución electroforética se realizó en sextuplicado a través de gel de poliacrilamida al 5.15% (p/v) en tubos de vidrio de 7 mm de diámetro por 12 cm de largo, con una intensidad de corriente de 20 miliamperes, según la técnica de Davis (13). Posteriormente las proteínas se revelaron con azul brillante Coomassie R-250 (14) y se

leyeron en densitómetro Gelman ACD-15, que permite conocer la distribución porcentual de cada fracción proteínica dentro de la muestra.

Las fracciones proteínicas se caracterizaron, según su movilidad electroforética, mediante la fórmula de Weber y Osborn (14).

$$\text{Movilidad} = \frac{\text{DMF}}{\text{LGD}} \times \frac{\text{LIG}}{\text{DMC}}, \text{ donde:}$$

- DMF = Distancia de migración de la fracción proteínica respectiva.
 LGD = Longitud del gel decolorado.
 LIG = Longitud inicial del gel.
 DMC = Distancia de migración del colorante.

Las albúminas y el pico I eluído por Sephadex G-100 del *L. albus* var. Multolupa se analizaron por electroforesis con dodecil sulfato de sodio en gel de poliacrilamida (6.150/o), conforme a la técnica de Laemmli (15). Luego, las proteínas se revelaron con azul brillante Coomassie R-250 (14).

Análisis aminoacídico

Este análisis se efectuó de acuerdo al método de Kohler y Palter (16) en un "pool" proveniente de seis extracciones sucesivas de albúminas y globulinas de ambas especies de lupino, según se describió anteriormente (12).

Las soluciones de albúminas y globulinas provenientes de sucesivas extracciones se liofilizaron en un equipo Eyela Freeze Dryer FD-1, y se formó un "pool" de proteínas. Estas se sometieron a hidrólisis con HCl 6N por 22 horas a 110°C, y el hidrolizado se concentró en un evaporador rotatorio (Rotavapor-R Buchi), se lavó con agua repetidas veces, y se suspendió en una solución amortiguadora de citrato (pH 2.2). En seguida se inyectó en un analizador de aminoácidos Hitachi Perkin-Elmer KLA-3B, basado en el principio de Spackman, Stein y Moore (17).

RESULTADOS Y DISCUSION

El densitograma de las albúminas (Figura 1) separadas por electroforesis en gel de poliacrilamida del *L. luteus* var. Aurea/Weico mostró seis fracciones, de las cuales dos estaban presentes en mayor proporción: la fracción 4 que representó el 40.80/o, y la fracción 2 con 17.30/o del total. Se confirmó que la extracción con solvente proporciona mezclas heterogéneas de proteínas, y de ahí la necesidad de emplear técnicas más precisas de separación. Respecto a las albúminas del *L. luteus* existe poca información de técnicas de separación por ultracentrifugación, filtración molecular o electroforesis.

En la Figura 2 el densitograma de las globulinas del *L. luteus* muestra cinco fracciones. De éstas, la 1 (24.90/o), la 2 (34.30/o) y la 3 (31.50/o) hacen el mayor aporte. Una de las primeras separaciones electroforéticas de estas globulinas las realizó Joubert (18) con el instrumento de Tiselius

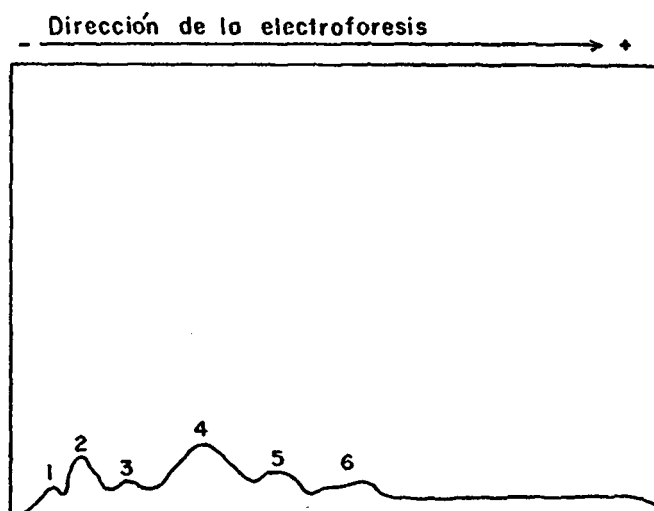


FIGURA 1

Densitograma de albúminas del *L. luteus* var. Aurea/Weico

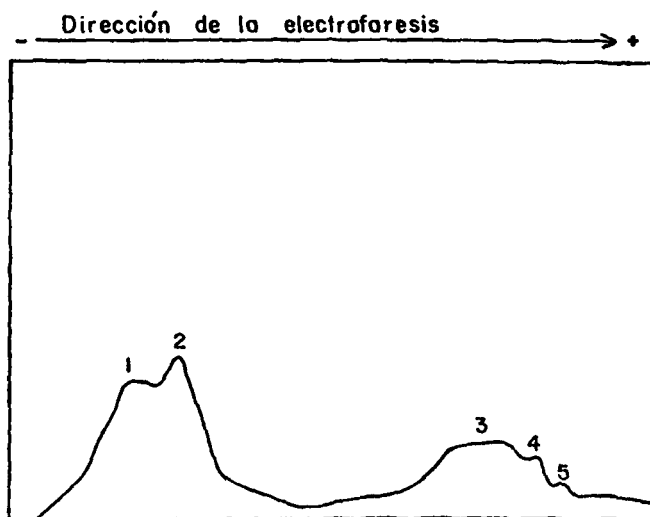


FIGURA 2

Densitograma de globulinas del *L. luteus* var. Aurea/Weico

obteniendo tres fracciones proteínicas de proteínas. La técnica en gel de poliacrilamida permitió una mejor resolución proporcionando las cinco fracciones antes mencionadas (Figura 2).

El densitograma que ilustra la Figura 3, correspondiente al pico I de las globulinas del *L. luteus* eluidas del Sephadex G-100, revela sólo dos fracciones, en el que la primera está presente en mayor proporción (76.30/o). Dado que el pico I estuvo constituido por las primeras proteínas que eluyeron de la columna, se podría pensar que su peso molecular estaría sobre 150,000.

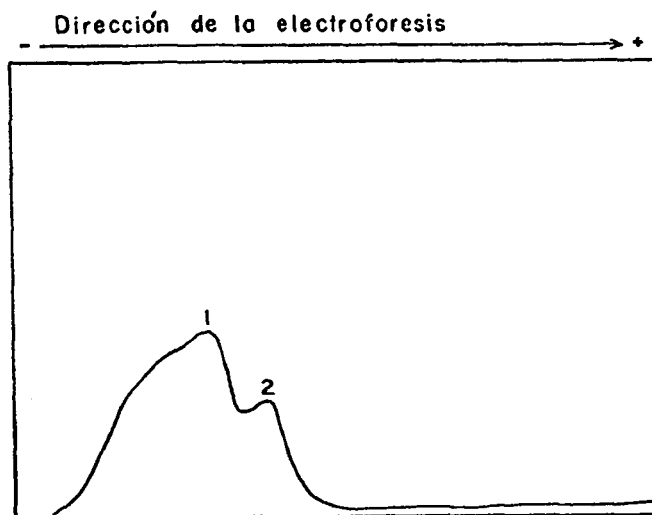


FIGURA 3

Densitograma del pico I del *L. luteus* var. Aurea/Weico

A continuación, el densitograma del pico II que se muestra en la Figura 4 señala tres fracciones, siendo la más preponderante la fracción I que representa el 50.40/o. Es posible apreciar la gran semejanza existente entre las fracciones del pico II eluidas del Sephadex G-100 y las fracciones 3, 4 y 5 de las globulinas totales de la Figura 2.

A la luz de estos resultados, el extracto de globulinas totales estaría constituido por dos poblaciones principales distribuidas en el pico I y pico II, cuyos constituyentes se evidenciaron por la electroforesis.

La Figura 5 capta las movilidades relativas calculadas a partir de los electroforetogramas de las albúminas, globulinas, pico I y pico II del *L. luteus*, mediante la fórmula de Weber y Osborn (14). La mayor o menor cantidad de proteínas se esquematiza por la intensidad de las bandas. Según se puede apreciar en la Figura 5, las fracciones de albúminas (A) se sitúan en la parte superior del gel presentando bajos valores de movilidad relativa (0.16 – 0.50), posiblemente debido a la dimensión de la macromolécula, de acuerdo con Davis (13).

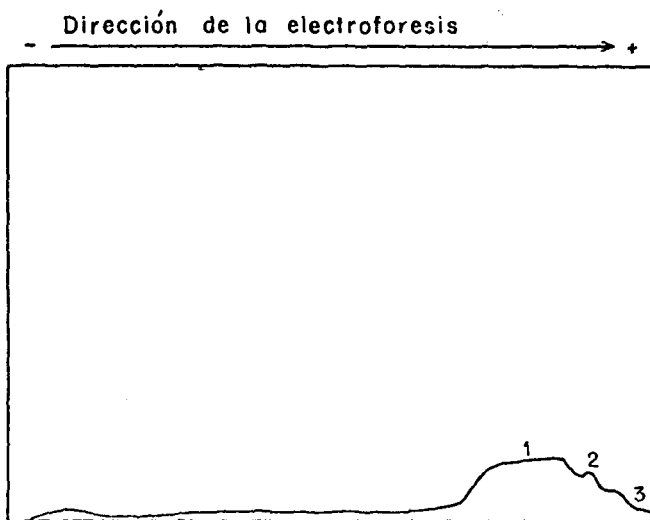


FIGURA 4

Densitograma del pico II del *L. luteus* var. Aurea/Weico

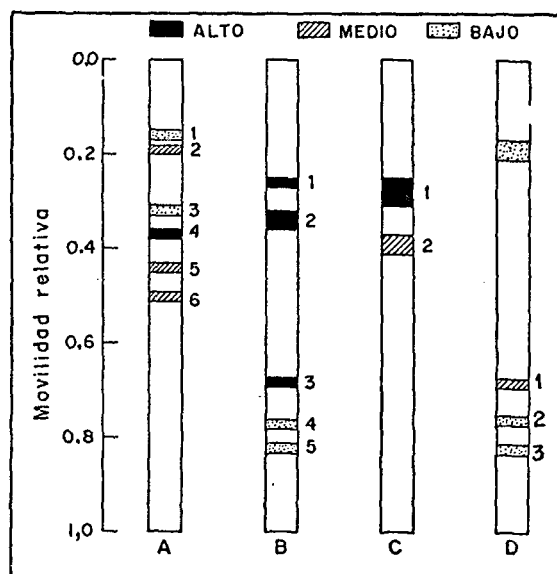


FIGURA 5

Movilidades electroforéticas relativas de albúminas (A), globulinas (B), pico I (C) y pico II (D) del *L. luteus* var. Aurea/Weico

En el caso de las globulinas totales, barra B, en la misma Figura 5, se diferencian dos agrupaciones, en la que la primera de ellas se ubica en el tercio superior, con una movilidad relativa de 0.26 y 0.34. La segunda agrupación, constituida por tres fracciones, tendría una menor dimensión molecular porque acusa una mayor movilidad relativa, o sea entre 0.68 y 0.82.

Las fracciones 1, 2 y 3 en la barra D presentan una alta movilidad; por lo tanto, sus dimensiones moleculares serían menores que las fracciones 1 y 2 en la barra C. A su vez, estas fracciones 1, 2 y 3 de la barra D son semejantes en cuanto a movilidad (0.68 a 0.82) a las fracciones de globulinas 3, 4 y 5 en la barra B.

La separación de las albúminas del *L. albus* en cuatro fracciones: 1, 2, 3 y 4, se aprecia en la Figura 6, alcanzando el mayor porcentaje (54.30%) la fracción 2. Por la metodología empleada en este trabajo que coincide con la línea seguida por Sgarbieri y Galeazzi (6) se llegó a separar cuatro fracciones de albúmina. En cambio, Cerletti, Fumagalli y Venturin (7), quienes efectuaron electroforesis en acetato de celulosa, encontraron cinco fracciones.

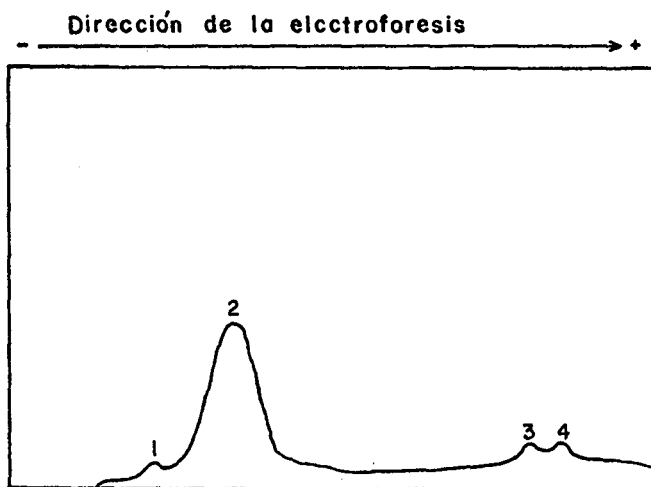


FIGURA 6

Densitograma de albúminas del *L. albus* var. *Multolupa*

El densitograma de globulinas separadas por electroforesis (Figura 7), permite observar la separación en cinco fracciones proteínicas, de las cuales la fracción 2 hace el mayor aporte (54.40%).

Respecto al fraccionamiento de las globulinas, Sgarbieri y Galeazzi (6) encontraron seis fracciones, y Cerletti, Fumagalli y Venturin (7), obtuvieron cuatro fracciones. La diversidad de resultados que se ha observado en las publicaciones señaladas podría deberse a que las metodologías

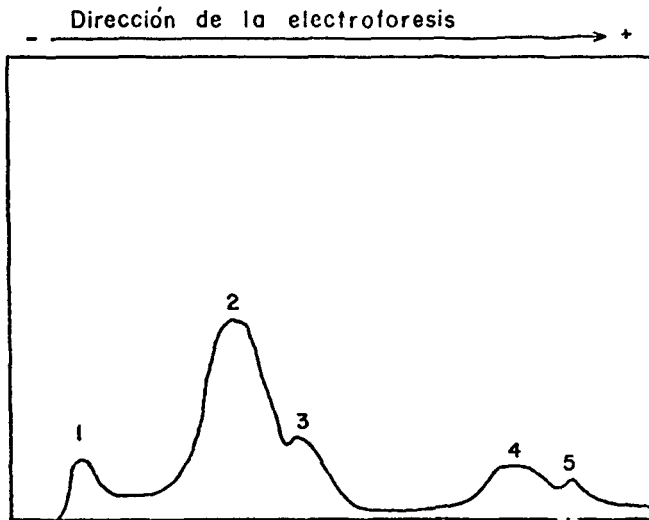


FIGURA 7

Densitograma de globulinas del *L. albus* var. Multolupa

aplicadas no fueron exactamente las mismas; las semillas empleadas provenían de diferentes programas de mejoramiento genético o bien fueron cultivadas en condiciones agronómicas diferentes.

En la Figura 8, la barra A de las albúminas señala dos agrupaciones; la superior integrada por dos fracciones de baja movilidad relativa (0.21 y 0.33), y la inferior, con dos fracciones de menor dimensión molecular cuyas movilidades son 0.79 y 0.85. Tanto las globulinas totales como las del pico I presentan gran semejanza entre sí en lo que se refiere al número y movilidad relativa de las fracciones. Las dos fracciones preponderantes (2 y 3), según se observa, acusaron movilidades relativas de 0.35 y 0.48.

Dado que el Sephadex G-100 y el G-150 no fraccionaron las globulinas del *L. albus*, se aplicó la técnica de la electroforesis con dodecil sulfato de sodio y mercaptoetanol, a fin de lograr un mayor fraccionamiento. La efectividad de esta técnica quedó demostrada al lograrse la separación de la macromolécula proteínica en sus monómeros respectivos (15).

En lo que respecta a las albúminas, del *L. albus* se obtuvieron nueve fracciones, a diferencia de las cuatro fracciones (Figura 6) logradas con la electroforesis, según Davis (13). A su vez, Sgarbieri y Galeazzi (6) encontraron siete fracciones de albúminas, y Oomah y Bushuk (10), por su parte, obtuvieron 14 fracciones.

Asimismo, se logró una mejor resolución (ocho fracciones) en la separación de la globulina del pico I comparadas con las cinco fracciones que se aprecian en la Figura 8, cuyas movilidades relativas se calcularon sobre la base de la electroforesis realizada según Davis (13). Trabajos ejecutados por Sgarbieri y Galeazzi (6) informan de 11 fracciones obtenidas por electroforesis con dodecil sulfato de sodio y a su vez, Oomah y Bushuk

(10) analizando tres cultivares de *L. albus*, evidenciaron de cinco a ocho fracciones de globulinas.

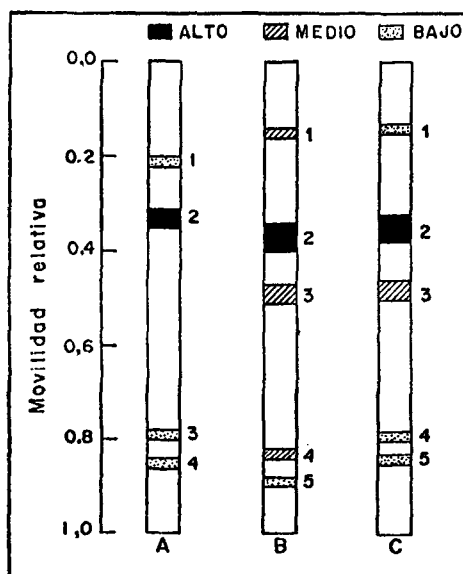


FIGURA 8

Movilidades electroforéticas relativas de albúminas (A), globulinas (B) y pico I (C) del *L. albus* var. Multolupa

La composición de aminoácidos de la harina, albúminas y globulinas del *L. luteus* y del *L. albus*, se da a conocer en la Tabla 1, respectivamente. Se observa que el contenido de lisina en la harina es más bajo que el de otras leguminosas de consumo habitual (frijol, garbanzo, lenteja y arveja). En cuanto a la metionina, los valores se asemejan, y en lo que respecta a histidina, el contenido de este aminoácido es superior al de las leguminosas ya citadas (19).

Al comparar los resultados del *L. albus* cultivado en Chile con la composición aminoacídica informada por Sgarbieri y Galeazzi para la misma especie de lupino en harina desgrasada, se observó semejanza en los valores encontrados (6). En cuanto a las proteínas fraccionadas, albúminas y globulinas los valores de aminoácidos (Tabla 1) son inferiores a lo informado por Durante y Cerletti (20).

Respecto al *L. luteus*, los datos de la literatura se refieren principalmente a la composición aminoacídica de la harina, encontrándose que los valores de *L. luteus* analizados en este trabajo son en general inferiores a los comunicados por Hove (21).

TABLA 1

COMPOSICION AMINOACIDICA DE LA HARINA DESGRASADA,
ALBUMINAS Y GLOBULINAS DE LUPINO
(g de aminoácido/16 g N)

Aminoácidos	<i>L. luteus</i> var. Aurea/Weico			<i>L. albus</i> var. Multolupa		
	Harina	Albúminas	Globulinas	Harina	Albúminas	Globulinas
<i>Esenciales</i>						
Isoleucina	3.2	0.7	2.7	4.4	2.2	2.4
Leucina	6.1	1.1	5.9	7.1	2.4	4.1
Lisina	4.9	1.8	4.1	5.0	2.5	3.2
Metionina	0.8	0.2	0.2	0.4	0.2	0.2
Cistina	Trazas	Trazas	Trazas	Trazas	Trazas	Trazas
Fenilalanina	3.5	0.7	2.7	3.9	2.5	2.2
Tirosina	2.3	0.6	1.9	4.2	3.7	2.4
Treonina	2.7	1.0	1.9	3.8	2.0	2.0
Triptofano*	—	—	—	—	—	—
Valina	2.9	0.9	2.0	4.1	1.8	2.2
<i>No esenciales</i>						
Ac. Aspártico	15.0	2.6	7.9	11.4	7.2	5.9
Ac. Glutámico	22.5	5.1	23.3	20.8	14.8	12.3
Alanina	2.5	1.0	1.8	3.1	2.1	1.6
Arginina	11.1	3.3	9.2	9.4	6.8	5.4
Glicina	2.8	1.0	2.1	3.4	1.3	1.9
Histidina	4.4	Trazas	2.0	3.1	Trazas	Trazas
Prolina	3.3	0.8	3.0	3.8	2.8	2.4
Serina	3.5	0.9	3.3	4.8	3.5	2.6

* No se determinó.

CONCLUSIONES

A partir de los hallazgos que se citan, se llegó a las siguientes conclusiones:

1. En las albúminas de los lupinos *luteus* y *albus* hay una fracción preponderante que representa aproximadamente el 50% del total de ellas. La distribución porcentual de las globulinas en el *L. luteus* acusa menor disparidad que en el *L. albus*. A su vez, las albúminas del *L. luteus* con un mayor número de fracciones son de menor movilidad relativa que las albúminas de *L. albus*.
2. En el *L. luteus* las albúminas dan un mayor número de fracciones, las cuales son de menor movilidad relativa que las del *L. albus*. Las globulinas de ambas especies con igual número de fracciones se caracterizan por presentar agrupaciones de baja y alta movilidad, respectivamente.

SUMMARY

SWEET LUPINE (*Lupinus luteus*, var. Aurea/Weico AND *Lupinus albus*, var. Multolupa) PROTEINS. II. THEIR SEPARATION BY ELECTROPHORESIS

The albumins and globulins extracted from *Lupinus luteus* var. Aurea/Weico and *Lupinus albus* var. Multolupa defatted flour samples were analyzed by polyacrilamide gel electrophoresis. The purpose was to determine the percentage distribution of pattern in the electrophoretograms and the relative mobility values of protein.

The *L. luteus* albumins densitogram showed six fractions, two of them, No. 2 and No. 4, represented 58.10% of the total. On the other hand, the globulins densitogram revealed five fractions, numbers 1, 2 and 3 representing 90.70%. The densitogram of peak I from Sephadex G-100 globulins filtration indicated two fractions similar to those number 1 and 2 of the total globulins, showing low relative mobility values (from 0.26 to 0.39). The *L. albus* albumins resolved in four fractions, with No. 2 being the most prevalent (54.30%). In regard to the *L. albus* globulins, these showed five fractions identical in distribution with those of peak I, fraction 2 appearing as the most important (48.20%). It was found that Sephadex G-100 did not perform a good separation. As to the relative mobility values of globulins, fractions 2 and 3 were the most prominent (relative mobility of 0.35 and 0.48, respectively).

It may be concluded that *L. luteus* albumins presented more components but with lower relative mobility values than those of *L. albus*. As for the globulins from both lupine flour samples, the gel separated fractions were classified in two groups of components, those of high and of low relative mobility.

AGRADECIMIENTOS

Nuestros sinceros agradecimientos a las Señoras Pilar Gómez y Eugenia Orrego, por su valiosa colaboración en la realización de este estudio, y a la Sra. Viola Lyon, por su excelente labor secretarial en la confección de este manuscrito.

BIBLIOGRAFIA

1. Baer, E. Von. El lupino dulce. Antecedentes generales de cultivo y de utilización en el Sur de Chile. *Simiente*, 42(1-3): 20-24, 1972.
2. Castro, E. Lupino: cultivo y utilización. *Rev. "El Campesino"*, Vol. CIX, No. 8, Agosto, 1978.
3. Hill, G. D. The composition and nutritive value of lupin seed. *Nutr. Abstr. Revs.*, B 47(8): 511-529, 1977.
4. Manriquez, J. & M. A. Thomas. The effect of lupin protein isolation procedures on the emulsifying and water binding capacity of a meat-protein system. *J. Fd Technol.*, 11: 409-422, 1976.
5. Ruiz, L. P. & E. L. Hove. Conditions affecting production of a protein isolate from lupin seed kernels. *J. Sci. Fd Agric.*, 27: 667-674, 1976.
6. Sgarbieri, V. C. & M. A. Galeazzi. Some physicochemical and nutritional properties of a sweet lupin (*Lupinus albus* var. Multolupa) protein. *J. Agric. Food Chem.*, 26(6): 1438-1442, 1978.

7. Cerletti, P., A. Fumagalli & D. Venturin. Protein composition of seeds of *Lupinus albus*. *J. Fd Sci.*, **43**(5): 1409-1414, 1978.
8. Restani, P., M. Duranti, P. Cerletti & P. Simonetti. Subunit composition of the seed globulins of *Lupinus albus*. *Phytochem.*, **20**(9): 2077-2083, 1981.
9. Duranti, M., P. Restani, M. Poniatowska & P. Cerletti. The seed globulins of *Lupinus albus*. *Phytochem.*, **20**(9): 2071-2075, 1981.
10. Oomah, D. B. & W. Bushuk. Characterization of lupine proteins. *J. Fd Sci.*, **48**: 38-41, 1983.
11. King, J., C. Aguirre & S. de Pablo. Functional properties of lupin protein isolates (*Lupinus albus* cv. Multolupa). *J. Fd Sci.*, **59**: 82, 1985.
12. Vásquez, M., E. Knapp, E. Guzmán & I. Zacarías. Proteínas de lupino dulce (*Lupinus luteus* var. Aurea/Weico y *Lupinus albus* var. Multolupa). I. Extracción y filtración por Sephadex. *Arch. Latinoamer. Nutr.*, **39**(2): 150-158, 1989.
13. Davis, B. J. Disc electrophoresis. II. Method and application to human serum proteins. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **121**: 404-427, 1964.
14. Weber, K. & M. Osborn. The reliability of molecular weight determination to dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis. *J. Biol. Chem.*, **244**(16): 4406-4412, 1969.
15. Laemmli, U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, **227**: 680-685, 1970.
16. Kohler, G. O. & R. Palter. Studies on methods for amino acid analysis of wheat products. *Cereal Chem.*, **44**: 512, 1967.
17. Spackman, D. H., W. H. Stein & S. Moore. Automatic recording apparatus for use in the chromatography of amino acids. *Anal. Chem.*, **30**: 1190-1206, 1958.
18. Joubert, F. J. Lupin seed proteins, a physicochemical study of the protein from yellow lupin seed (*Lupinus luteus*). *Biochem. Biophys. Acta*, **17**: 444-446, 1955.
19. Schmidt-Hebbel, H. & M. I. Pennacchiotti. *Tabla de Composición Química de Alimentos Chilenos*. (7a. ed.), Santiago, Editorial Universitaria, 1985, 35 p.
20. Duranti, M. & P. Cerletti. Amino acid composition of seed proteins of *Lupinus albus*. *J. Agric. Food Chem.*, **27**(5): 977-978, 1979.
21. Hove, E. L. Composition and protein quality of sweet lupin seed. *J. Sci. Fd Agric.*, **25**: 851-859, 1974.

AISLAMIENTO Y CARACTERIZACION PARCIAL DE LA ENZIMA FENOLOXIDASA DE MANZANA (*Malus domestica*, var. Anna)

Herlinda Soto-Valdéz¹ y Augusto Trejo-González²

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

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue el aislamiento y la caracterización parcial de la enzima polifenoloxidasas de manzana (*Malus domestica* Var. Anna), cosechada en la región semidesértica de la Costa de Hermosillo, Sonora, México. Se estudió el efecto que tienen el pH, temperatura, especificidad hacia sustratos y separación bajo condiciones de cromatografía hidrofóbica. La enzima se aisló a partir de manzanas maduras tratadas con acetona fría. Del polvo residual obtenido se extrajo la enzima con regulador de fosfatos, y el extracto se utilizó para realizar la caracterización, encontrándose que el pH y temperatura óptimos eran 5.36 y 35°C, respectivamente. La especificidad hacia sustratos mostró ser decreciente desde 4-metil catecol, ácido clorogénico, catecol y ácido cafeico hasta 3,4-dihidroxifenilalanina (DOPA). La enzima resultó ser más termoestable que la generalidad de las oxidasas en el intervalo de temperatura de 35°C a 60°C. El comportamiento del extracto a través de cromatografía hidrofóbica produjo un solo pico con actividad polifenolásica, lográndose una purificación de aproximadamente 300 veces. El contenido de compuestos con grupo fenólico fue de 1.16 g/100 g de fruta fresca. Las características polifenolásicas encontradas se asemejan a las de manzanas de regiones templadas, aunque éstas presentan una mayor termoestabilidad, lo que explica hasta cierto grado la gran influencia que la temperatura ejerce sobre el fenómeno del oscurecimiento enzimático en las condiciones tan cálidas en las que crece y se desarrolla la fruta en esta región. Aunado a ello, el alto contenido de compuestos con el grupo fenólico provoca mayor velocidad de la expresión del deterioro de la fruta por oscurecimiento enzimático.

Manuscrito modificado recibido: 6-9-88.

- 1 Técnico Académico, Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A. C., Carretera La Victoria, km 0.6, Apartado Postal 1735, Hermosillo, Sonora, México 83000.
- 2 Investigador Titular, Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A. C., CIIDIR-PN, Justo Sierra No. 28, Jiquilpan, Michoacán, México 59510.

INTRODUCCION

Entre los frutales adaptados a climas cálidos que se cultivan en el Estado de Sonora (principalmente en la región de la Costa de Hermosillo), se encuentra la manzana *Malus domestica* Var. Anna. Esta es un híbrido que se obtuvo en Israel en 1967 (1-3), de manzana "Red Delicious" con manzana "Hashab", siendo esta última una variedad local que produce frutas de muy mala calidad, pero con muy baja necesidad de horas frío. Las características principales de la manzana objeto de estudio, son: buen sabor y aroma, balance azúcar:acidez regular, color que va de verde claro a rojo, peso promedio de 200 g, textura poco firme, forma cónica alargada y alta velocidad de oscurecimiento. Además, tiene buen rendimiento hortícola y es muy adaptable a condiciones semidesérticas (2, 4).

Un factor negativo de esta variedad es que presenta una vida de almacenamiento limitada (4), ya que por las características mencionadas, se magulla fácilmente durante su manejo, desencadenándose reacciones de oscurecimiento enzimático (5). A ello se aúna el hecho de que la cosecha se lleva a cabo a una temperatura ambiental de aproximadamente 40°C, lo que favorece la aceleración de los cambios en cuestión. El oscurecimiento enzimático en las manzanas es causado principalmente por la enzima polifenoloxidasas. La etapa fundamental de este fenómeno es la oxidación de compuestos fenólicos (sustratos) a o-quinonas, en presencia de oxígeno. Las o-quinonas posteriormente se condensan y polimerizan a melaninas (6) que son pigmentos oscuros y pueden interaccionar con proteínas formando complejos coloridos y estables llamados melanoproteínas (7). El tipo de interacción entre quinonas y proteínas es la formación de enlaces covalentes con los grupos amino, tiol y metileno de los aminoácidos (8).

El Estado de Sonora tiene un área de 1,568 hectáreas plantada con esta variedad de manzana, de las cuales, 441 se encuentran en la región de la Costa de Hermosillo, por lo que se considera entre los lugares de mayor extensión en el mundo con este frutal (9).

Se han hecho caracterizaciones de polifenoloxidasas en varias frutas, incluyendo manzana (10-20), pero no de la variedad Anna. Además, en la literatura revisada no se encontraron estudios de composición química general, a pesar de las diferencias que presenta con otras variedades de zonas templadas. Esta información es necesaria para evitar la actividad de la enzima al procesar la manzana, ya que los métodos para su inactivación se basan principalmente en aplicación de calor y cambios de pH.

En base a lo expuesto, los objetivos de este trabajo fueron los siguientes:

a) Caracterizar la enzima polifenoloxidasas de la manzana (*Malus domestica* Var. Anna). Esto incluyó la determinación de su pH y sustrato óptimos de actividad, actividad específica, comportamiento térmico, y su purificación parcial a partir de un extracto enzimático.

- b) Cuantificar el contenido de compuestos fenólicos y azúcares reductores en la fruta.
- c) Determinar la composición química general de la manzana.

MATERIAL Y METODOS

Se utilizó manzana (*Malus domestica* Var. Anna), cosechada en la región de la Costa de Hermosillo, Sonora, México, durante los períodos de junio a agosto de 1985 y 1986.

Diseño experimental — Para la preparación del extracto enzimático crudo se hizo necesario elaborar un diseño de muestreo de la manzana, ya que la actividad de la polifenoloxidasas varía de una fruta a otra, aún en un mismo árbol. El lote experimental estaba compuesto de 7,200 árboles, de los cuales se muestrearon 85 (21). Luego la posición de los mismos se determinó al azar, mediante una tabla de números aleatorios (22).

Se muestrearon 10 manzanas de la parte oriente de cada árbol, tratando de disminuir la variación climática al máximo. El criterio a seguir para llevar a cabo el muestreo se basó en el color, escogiéndose manzana con 40% de rojo, que es el criterio utilizado para cosecharla. En esta etapa de madurez, la fruta presenta un contenido aproximado de sólidos solubles de 12 °Brix (23).

Las manzanas muestreadas de todos los árboles se mezclaron y de éstas se tomaron nueve submuestras que se analizaron por triplicado, para posteriormente medir las actividades específicas de polifenoloxidasas.

Preparación del polvo con actividad de polifenoloxidasas — Antes de llevar a cabo la preparación, a las muestras de manzana se les determinó la concentración de sólidos solubles (°Brix) en una pequeña porción de la fruta, escogiéndose manzanas que tuvieran 12 °Brix. Para extraer la enzima se utilizó el método descrito por Flurkey y Jen (24), modificado por Sciancalepore y Longone (25). Según éste, se homogeneizan muestras de 100 g de manzana con acetona fría (-20°C) durante un minuto, en la proporción de 2:1 (acetona:manzana), agregando 2.5 g de polietilén glicol con el fin de atrapar los compuestos fenólicos que se encuentran en forma natural en la fruta. El homogeneizado se filtra a través de papel filtro Ederol número 2, con ayuda de vacío; los sólidos se resuspenden en acetona y se vuelve a repetir la operación, obteniéndose un polvo blanco que se deja secar por 12 horas a temperatura ambiente (25°C) a fin de eliminar la acetona residual.

Extracción de enzima — El polvo se almacenó en un desecador a -5°C hasta el momento de utilizarlo para la extracción de la enzima. Para obtener el extracto enzimático se suspendieron 2 g del polvo en 100 ml de un regulador de fosfatos de 0.05 M a pH de 7, conteniendo KCl 1 M. La suspensión se agitó por 30 minutos a 4°C y luego se centrifugó a 21,000 g por 45 minutos a 4°C en una centrífuga refrigerada IEC. El sobrenadante se utilizó como extracto enzimático.

Actividad específica de la enzima — Esta evaluación se llevó a cabo espectrofotométricamente, usando un espectrofotómetro UV-VIS de

doble haz, Perkin-Elmer Modelo Lambda 3. El método empleado fue el descrito por Sciancalepore y Longone (25). La reacción enzimática se preparó mezclando 1.9 ml de solución reguladora de citrato 0.1 M a pH de prueba o a pH óptimo, 1.0 ml de una solución 0.02 M de sustrato en el mismo regulador, y 0.1 ml de extracto enzimático. La temperatura de reacción fue de 30°C y se leyó la absorbencia contra tiempo a la longitud de onda correspondiente al sustrato utilizado (26). La reacción se llevó a cabo por tres minutos, graficándose absorbencia contra tiempo, y la actividad enzimática se midió como la velocidad inicial (V_0) de la reacción dada por la pendiente de la porción recta inicial de la curva.

Con miras a determinar la actividad específica de la enzima, se analizó la concentración de proteína en el extracto enzimático por el método de Bradford (27), utilizando como estándar albúmina de plasma bovino. Una unidad de actividad enzimática específica se define como el cambio en absorbencia por minuto (V_0) por mg de proteína.

Determinación del sustrato óptimo de la enzima — Para este propósito se utilizaron como sustratos los cinco compuestos fenólicos más comunes en la manzana: ácido clorogénico, catecol, 4-metilcatecol, ácido caféico y dl-3,4-dihidroxifenilalanina (DOPA).

Se usaron soluciones de sustrato en concentración de 0.02 M en regulador de citratos, 0.1 a un pH de 5.0. En seguida se midió la actividad enzimática de los extractos para cada sustrato según se mencionó en la parte correspondiente a este método. Se consideró como sustrato óptimo aquél sobre el cual la enzima acusó mayor actividad, y sobre éste se hicieron las mediciones de actividad específica.

Determinación del pH óptimo de la enzima — Con este objetivo se aplicó el método descrito por Satjawatcharaphong *et al.* (20). Se probó la solución reguladora de citrato de sodio 0.1 M a valores de pH desde 0.5 hasta 7.0, con variación de un decimal.

El pH óptimo de la enzima fue aquel valor en el que se presentó la mayor actividad enzimática en la mezcla de reacción con el sustrato óptimo, y fue en el que se efectuaron las mediciones de actividad específica.

Determinación de la temperatura óptima de actividad de la enzima — Se midió actividad enzimática a temperaturas de 15 a 60°C con una variación de 5°C, utilizando el sustrato y pH óptimo de actividad. Los resultados se graficaron como temperatura contra actividad específica y de ahí se obtuvo la temperatura óptima.

Comportamiento térmico de la enzima — Para conocer el comportamiento térmico de la enzima se siguió básicamente el método notificado por Whitaker y Bernhard (28). Se aplicaron tratamientos térmicos a extractos enzimáticos desde 15 a 90°C con una variación de 5°C, durante 10 minutos. Posteriormente se midió la actividad a 30°C, utilizando el sustrato y pH óptimos.

Para obtener la energía de activación se utilizó la ecuación de Arrhenius.

Purificación parcial del extracto enzimático — Esta medición se llevó a cabo aplicando cromatografía hidrofóbica (29). Así, se empacó una columna de vidrio BIO-RAD de 0.7 x 20 cm con la resina hidrofóbica

Phenyl-Sepharose CL-4B (Pharmacia Fine Chemicals), previamente deaerada por acción de vacío antes de ponerla en la columna. Una vez preparada, se equilibró con una solución reguladora (SR) de fosfatos 0.05 M, con KCl 1 M y sulfato de amonio 1 M a un pH de 6.8. El extracto enzimático se aplicó en la parte superior de la columna; las proteínas fueron eluidas usando la solución reguladora en concentraciones decrecientes (SR, 0.8 SR, 0.6 SR, 0.4 SR, 0.2 SR y 0.1 SR). El último tratamiento se efectuó eluyendo con una solución al 50% de etilén-glicol en agua; la cantidad de cada eluyente fue de 20 ml y se colectaron fracciones de 2.0 ml. La concentración de proteína se calculó utilizando el método espectrofotométrico, que consiste en medir absorbencia a 280 nm (30). Se sabe que puede haber interferencia con ácidos nucleicos que tienen su longitud de onda máxima a 260 nm, pero es un método muy utilizado en este tipo de separaciones cromatográficas porque tiene la ventaja de no destruir la muestra, cuya cantidad en estos casos es crítica. La actividad enzimática fue determinada por el método descrito anteriormente.

Análisis de Compuestos con Grupo Fenólico

La determinación de compuestos con grupo fenólico se llevó a cabo de acuerdo con la técnica descrita por Weurman y Swain (31), utilizando el reactivo de fenol de Folin-Ciocalteau (32). El procedimiento para extraer las sustancias fenólicas de la fruta fue el informado por Joslyn y Goldstein (33), y se utilizan dos series de extracciones: una con metanol absoluto, y la otra con metanol al 50%. En este caso, se realizó una serie de dos extracciones más con agua destilada. Luego se analizó cada serie de extracciones y, finalmente, se sumaron para obtener los fenoles totales.

Análisis de Azúcares Reductores

Esta determinación se realizó de acuerdo al método de Somogyi (34).

Análisis Proximal

La determinación de los contenidos de humedad, proteína, grasa, fibra y cenizas se llevó a cabo por los métodos publicados por la AOAC (35). El contenido de carbohidratos se calculó por diferencia.

RESULTADOS Y DISCUSION

La actividad que acusó la polifenoloxidasas de la manzana *Malus domestica* Var. Anna sobre los diferentes sustratos sometidos a prueba se presenta en la Figura 1, en donde se observa que la afinidad enzimática es más alta para 4-metil catecol, seguida por ácido clorogénico, catecol, ácido caféico y 3-4 DOPA. En base a estos resultados, se escogió el 4-metil catecol para llevar a cabo todos los ensayos enzimáticos.

Los datos obtenidos concuerdan con los informados por Vámos-Vigyázó y Gajzágó (19), con relación al 4-metil catecol como el mejor sustrato para la enzima polifenoloxidasas de la manzana de la variedad

“Jonathan”. El mismo comportamiento se observó para la cáscara de manzana de la variedad “Cox Orange Pippin”, tanto de una preparación cruda, como el de una preparación purificada. Asimismo, se informa que en una preparación de polifenoloxidasas de cáscara de manzana de la variedad “Red Delicious” también se presenta la misma afinidad específica para 4-metil catecol (36).

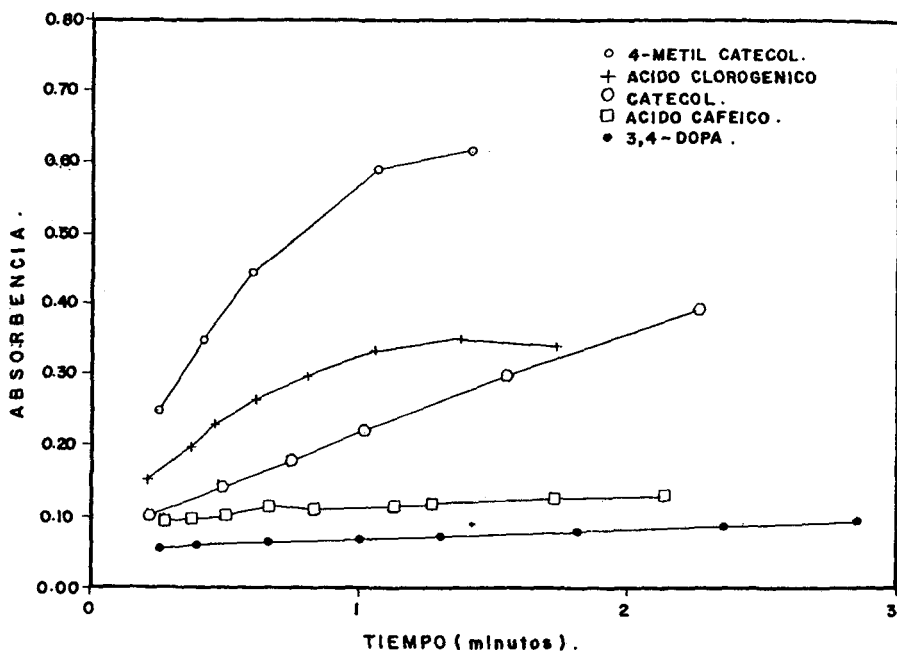


FIGURA 1

Actividad de la enzima polifenoloxidasas de manzana *Malus domestica* Var. Anna, sobre diferentes sustratos

En lo referente al pH óptimo de actividad de la enzima, en la Figura 2 se expone la curva típica de campana que produce la polifenoloxidasas, donde el pH óptimo fue 5.36. Este valor de pH se utilizó para llevar a cabo todos los ensayos enzimáticos con el fin de optimizar la caracterización.

Entre los trabajos informados en la literatura de determinación de pH óptimo de polifenoloxidasas de manzana con valores cercanos al encontrado en la variedad Anna, están los de Shannon y Pratt, quienes encontraron en las variedades “Rome Beauty”, “Winesap” y “Cortland”, un pH óptimo de actividad de 5.2 (14). Walker notificó para la variedad “Sturmer Pippin”, un pH óptimo de actividad de 5.0 (11).

Los resultados de actividad específica de las nueve muestras analizadas según el diseño experimental se agrupan en tres niveles de actividad,

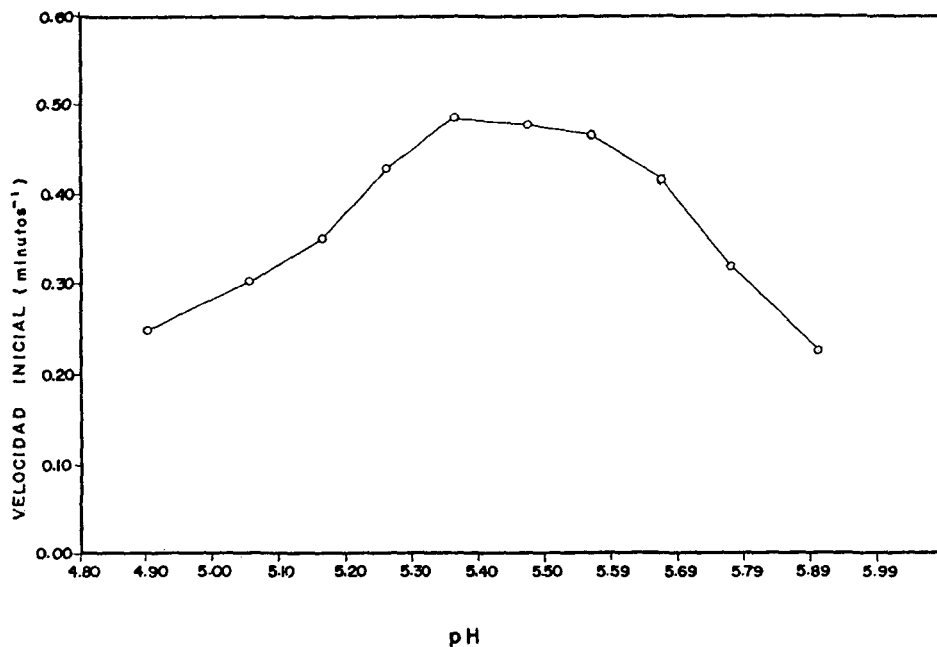


FIGURA 2

pH óptimo de la enzima polifenoloxidasas, utilizando como sustrato 4-metil catecol

como se muestra en la Tabla 1. Esta presenta un primer grupo de alta actividad, con actividad específica media de 96.2 unidades; un segundo grupo de mediana actividad, con 61.4 unidades, y un tercer grupo de baja actividad, con 46.8 unidades. Si no se utiliza esta agrupación se obtiene una dispersión de datos muy grande. Ello no es raro tratándose de actividades enzimáticas, ya que éstas varían hasta en frutas de un mismo árbol.

Se escogió una muestra del nivel de alta actividad para purificarla parcialmente por el método de cromatografía hidrofóbica, obteniéndose los resultados que ilustra la Figura 3. Según se observa, la proteína eluida con 0.2 SR tiene actividad de polifenoloxidasas, y comparando la actividad específica de la fracción más pura con el extracto crudo original, se calcula un incremento en actividad de 307 veces al purificarla. Comportamientos semejantes se han descrito para purificaciones de polifenoloxidasas tanto de durazno "Red Haven" en estado maduro (37), como en la uva "Ravat" (38).

En este experimento, la proteína se midió por el método espectrofotométrico, que consiste en medir absorbencia a 280 nm (30), y se encontró que existe una diferencia apreciable con el método de Bradford. Por este motivo, en la Figura 3 las unidades de actividad específica son más bajas que las descritas en la Tabla 1.

TABLA 1

CLASIFICACION DE ACTIVIDADES DE POLIFENOLOXIDAS DE
MANZANA (*Malus domestica* Var. Anna)

Tipo de actividad	Número de submuestras	Unidades de actividad específica ^a
Alta	3	96.2 ± 4.4
Mediana	2	61.4 ± 1.5
Baja	4	46.8 ± 2.6

^a Una unidad de efectividad específica equivale al cambio en absorbencia por minuto, por mg de proteína en la reacción enzimática.

Se observó que los polvos (precipitados con acetona) obtenidos de cada muestra, conservaron su actividad de un año a otro, almacenados en un desecador, con atmósfera baja de O₂ y -5°C.

En la Figura 4 se presenta la variación de actividad enzimática respecto a la temperatura, siendo 35°C la temperatura óptima de actividad.

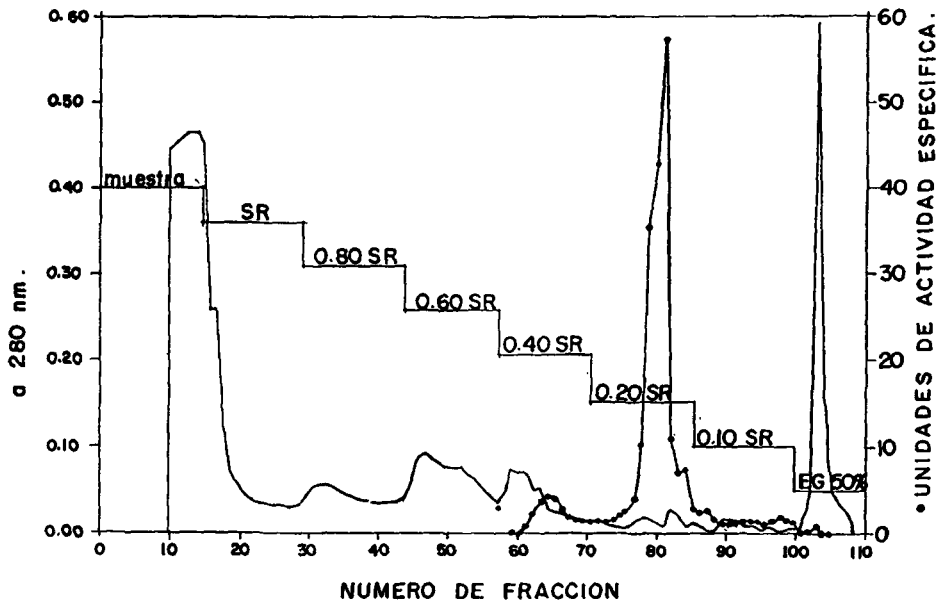


FIGURA 3

Purificación parcial del extracto enzimático, utilizando la resina hidrofóbica Phenyl sepharose CL-4B.

SR: Solución reguladora de fosfatos 0.05 M, con KCl 1 M y sulfato de amonio 1 M
EG 50%: Etilén glicol al 50%

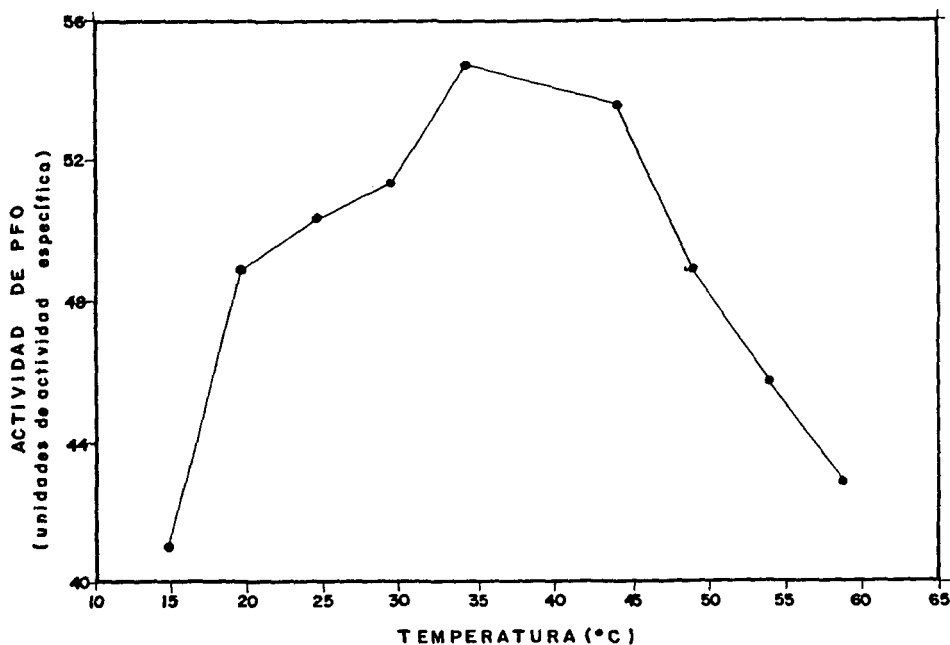


FIGURA 4

Temperatura óptima de actividad de la enzima polifenoloxidasasa de manzana, *Malus domestica* Var. Anna. La temperatura óptima fue de 35°C

Satjawatcharaphong *et al.*, informan para polifenoloxidasasa de manzana "Red Delicious", una temperatura óptima de actividad de 30°C (20).

La energía de activación (E_a) de la reacción catalizada por polifenoloxidasasa —elaborada de acuerdo al método gráfico de Arrhenius— se detalla en la Figura 5. Como puede apreciarse, en el intervalo de 288 a 333 K (15 a 60°C) la enzima es bastante termoestable, y hasta el intervalo de 333 a 353 K (60 a 80°C) se presenta una pendiente de inactivación por desnaturalización proteínica (en la Figura 5 no es posible graficar los puntos correspondientes a 75 y 80°C porque es escala no logarítmica). Cuando se calcula la pendiente de una línea que pase por los puntos correspondientes a las temperaturas de 288 a 308 K (15 a 35°C) se puede obtener la E_a para la conversión de sustrato a producto; este valor es de 1,562.71 kcal/mol (6,543.4 J/mol), con una pendiente de -342.2 kcal.

Un comportamiento semejante al encontrado en este trabajo, con relación a la termoestabilidad de la preparación de polifenoloxidasasa, lo informan Walker y Hulme para manzana de la variedad "Sturmer Pippin". Dichos investigadores observaron la inactivación arriba de los 60°C y, además, encontraron dos bandas de actividad hacia 4-metil catecol por electroforesis en gel de almidón (13).

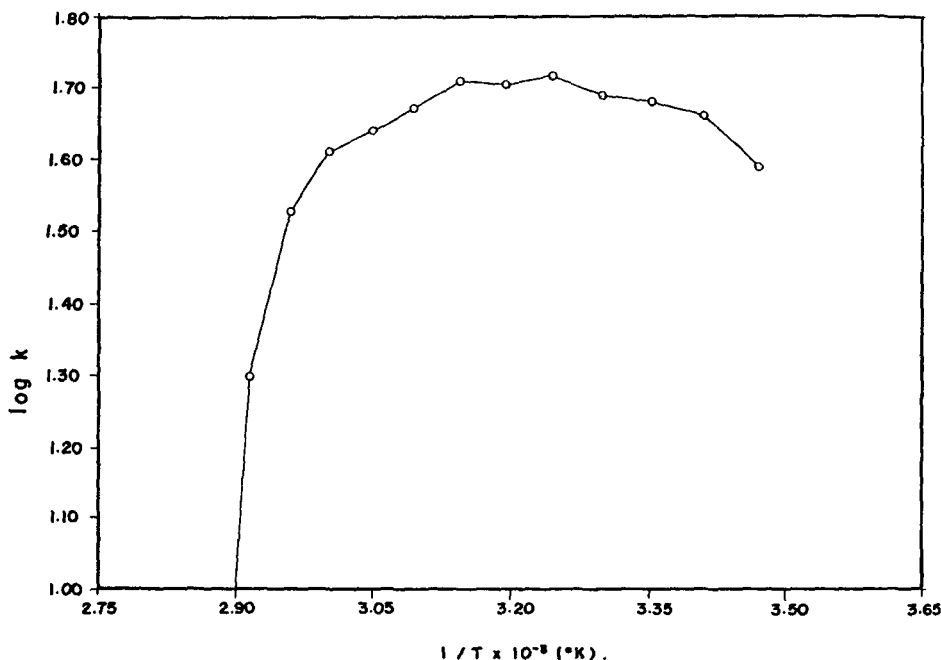


FIGURA 5

Comportamiento térmico de la enzima polifenoloxidasas de manzana, *Malus domestica* Var. Anna. La Energía de activación (E_a) de la reacción enzimática, según la ecuación de Arrhenius [$k = A \exp(-E_a/RT)$] fue de 1,567.7 kcal/mol (6,543.4 J/mol). K es actividad enzimática

La E_a obtenida para la conversión de sustrato a producto en este trabajo es baja, comparándola con la mencionada por Whitaker y Bernhard para reacciones enzimáticas en general, (de 6,000 a 12,000 kcal/mol) (28). El que se presente una E_a tan baja se debe a que la actividad de la enzima varía muy poco de los 20 a los 35°C, en comparación con la mayoría de las enzimas en las que normalmente hay un incremento considerable.

El valor de energía de activación de este orden podría interpretarse como un cambio conformacional de la enzima, o cambios en el grado y tipo de agregación de las subunidades, que le otorgan menor termolabilidad, o bien al efecto de la temperatura sobre la activación de alguna forma latente en la fenolasa (39).

En cuanto a la temperatura de inactivación total, ésta fue de 80°C por 10 minutos en el extracto enzimático. Esto no significa que la enzima en la manzana se inactive bajo estas condiciones, ya que puede ser más estable a la temperatura en el tejido original, donde es protegida por la presencia de otros materiales coloidales (proteínas, carbohidratos, pectinas, etc.),

que se pierden al extraer la enzima de la fruta. No obstante, el dato es fundamental para establecer su inactivación térmica.

El contenido de compuestos con el grupo fenólico de la manzana (*Malus domestica* Var. Anna) fue 1.16 ± 0.12 g/100 g de fruta fresca, valor que es superior a los encontrados para otras variedades de manzana, ya que los datos que se informan están comprendidos en un rango de 0.1 a 1.0 g/100 g (40). La concentración de fenoles influye directamente en el grado de oscurecimiento de la fruta, en virtud de que mientras mayor sea la concentración de sustratos que exista, mayor será la actividad que presente. En este caso, el rápido deterioro de la fruta puede atribuirse al alto contenido de fenoles, y no a la actividad de la enzima.

En el caso de azúcares reductores, los resultados acusaron un porcentaje de peso en fresco de 7.3 ± 1.26 , lo que muestra que esta variedad de manzana se encuentra dentro del rango considerado normal, (6.3 – 10.67%) (40). Por lo tanto, el oscurecimiento no enzimático no influye en el rápido deterioro de la fruta.

Los resultados de composición proximal de la manzana se dan a conocer en la Tabla 2. Según se observa, los datos encontrados son similares a la composición informada para otras variedades de manzana (40).

TABLA 2

COMPOSICION PROXIMAL DE LA MANZANA (*Malus domestica* Var. Anna)^a

Componente	$\bar{x} \pm DE$ (g/100 g)
Agua	84.11 \pm 1.11
Proteína	0.32 \pm 0.02
Grasa	0.19 \pm 0.04
Fibra	0.79 \pm 0.06
Cenizas	0.35 \pm 0.07
Carbohidratos ^b	14.24 \pm 0.97

a Los resultados son producto del análisis de 5 muestras por triplicado.

b Los carbohidratos se calcularon por diferencia.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

La caracterización parcial de la enzima polifenoloxidasas de manzana, *Malus domestica* Var. Anna, muestra un comportamiento semejante al de otras variedades de manzana; sin embargo, presenta mayor termoestabilidad respecto a oxidasas en general.

La termoestabilidad observada puede explicar la gran estabilidad de la enzima y su tremenda influencia en el fenómeno del oscurecimiento, aún a temperaturas tan extremas como a las que crece y desarrolla la fruta en la región, donde soporta temperaturas hasta de 45°C o más. Además, la concentración alta de compuestos con grupo fenólico contribuye a la

rápida aparición de los productos coloridos ante el mínimo traumatismo externo. Lo dicho, aunado a las características estructurales de esta manzana (blandura, células grandes, forma, tamaño, etc.) provoca el alto grado de oscurecimiento en contraste con otras variedades de clima más templado.

Ello presenta un gran reto al tratar de inactivar a la enzima por otros medios, como son utilizar pH bajo, exclusión de oxígeno o conservadores. Por lo tanto, es recomendable combinarlos con aplicación de temperatura, a fines de obtener resultados eficaces.

La información anterior puede servir de base para el desarrollo tecnológico del aprovechamiento industrial de esta manzana y, en nuestro criterio, constituye un aporte a la literatura científica, muy escasa en cuanto a este frutal de reciente introducción en las zonas áridas de México.

SUMMARY

ISOLATION AND PARTIAL CHARACTERIZATION OF POLYPHENOLOXIDASE FROM APPLE (*Malus domestica* Anna var.)

This study pursued the isolation and partial characterization of the enzyme polyphenoloxidase from apple (*Malus domestica* Anna variety), grown in the Hermosillo Coast (State of Sonora, Mexico). The effects of pH and temperature as well as its specificity towards substrates, and its behavior under conditions of hydrophobic chromatography, were studied. The enzyme was isolated from a residual powder obtained from ripe apples homogenized with cold acetone. The extract thus prepared was used to characterize the enzyme, and it showed an optimum pH of 5.36 and an optimum temperature of 35°C. The substrate specificity proved to decrease from 4-methyl catechol, chlorogenic acid, catechol, and caffeic acid, to 3,4-dihydroxyphenyl alanine (DOPA). The enzyme resulted to be more thermostable (temperature range: 35°C to 60°C) than the rest of oxidases of plant origin. When the extract was eluted under conditions of hydrophobic chromatography separation, it appeared as a single peak resulting in a 300 fold purification. The phenolase activity characteristics found in the present study were similar to those observed in other apples from temperate climates; however, this particular polyphenoloxidase is more thermostable under natural conditions. This explains why apples of the Anna variety, at the high harvesting temperature, show a very fast formation of brown spots even when there is a minor damage. The content of compounds with phenolic group was high (1.16 g/100 g fresh weight). Further increase of the velocity of fruit enzymatic browning was due to this reason.

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan su agradecimiento al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el apoyo financiero otorgado para la realización de este estudio, y al Sr. Alfredo Noriega desean agradecer, asimismo, el haberles proporcionado la fruta necesaria para dicho propósito.

BIBLIOGRAFIA

1. Crocker, T.E. & W.B. Sherman. The apple. **Fruit Crops Fact Sheet**. University of Florida, FC-14, 1979.
2. Markus, Z., J. Rojas & M.A. Solís. Manzana variedad "Anna". **Fruticultura**. Costa Rica, Programa Nacional del Manzano del Ministerio de Agricultura y Ganadería, 1984. (Boletín Divulgativo No. 1).
3. Sherman, W.B., R.H. Sharpe & J.B. Aitken. Subtropical apples. **Proc. Fla. State Hort. Soc.** 84: 9-11, 1971.
4. Rushing, J.W. & W.B. Sherman. Storage and marketing potential of Florida apples and pears. **Proc. Fla. State Hort. Soc.**, 94: 358-359, 1981.
5. Miller, E.P. & L.H. Baker. An evaluation of apple cultivars for Central and North Florida. **Proc. Fla. State Hort. Soc.**, 95: 88-90, 1982.
6. Matheis, G. Enzymatic browning of foods. **Z. Lebensm. Unters. Forsh.**, 176: 454-462, 1983.
7. Martins, M.A. Comportamento das polifenoxidasés em alimentos. **Arch. Latinoamer. Nutr.**, 34(2): 269-287, 1984.
8. Sosulski, F. Organoleptic and nutritional effects of phenolic compounds on oil seed protein products: A review. **J. Am. Oil Chem. Soc.**, 56: 711-715, 1979.
9. Martínez, J. **Comunicación Personal**. Centro de Investigaciones Agrícolas del Noroeste. Hermosillo, Sonora, México, 1987.
10. Weurman, C. & T. Swain. Changes of browning of Bramely's seedling apples during their development. **J. Sci. Food Agric.**, 6: 186-192, 1955.
11. Walker, J.R.L. Studies on the enzymic browning of apples. **Aust. J. Biol. Sci.**, 17: 360-371, 1964.
12. Walker, J.R.L. & A.C. Hulme. The inhibition of the phenolase from apple peel by polyvinylpyrrolidone. **Phytochem**, 4: 677-685, 1965.
13. Walker, J.R.L. & A.C. Hulme. Studies on the enzymic browning of Apple-III. **Phytochem**, 5: 259-262, 1966.
14. Shannon, C.T. & D.E. Pratt. Apple polyphenol oxidase activity in relation to various phenolic compounds. **J. Food Sci.**, 32: 479-483, 1967.
15. Liffen, C.L. & H.N. Cleeve. Some aspects of enzymatic browning in apples. **J. Biological Education**, 9: 127-133, 1975.
16. Walker, J.R.L. & E.L. Wilson. Studies on the enzymic browning of apples. Inhibition of apple o-Diphenol oxidase by phenolic acids. **J. Sci. Fd Agric.**, 26: 1825, 1975.
17. Constantinides, S.M. & C.L. Bedford. Multiple forms of phenolase. **J. Food Sci.**, 32: 446-450, 1967.
18. Vamós-Vigyázó, L., I. Gajzágó, K. Mihályi & V. Nádudvari-Márcus. Changes in enzymic browning, polyphenol oxidase and polyphenol contents of Jonathan apples during storage. **Acta Alimentaria**, 6: 389-400, 1977.
19. Vamós-Vigyázó, L. & I. Gajzágó. Substrate specificity of the enzymic browning of apple. **Acta Alimentaria**, 7: 79-90, 1978.
20. Satjawstcharaphong, C., K.S. Rymal, W.A. Dozier, Jr. & R.C. Smith. Polyphenol oxidase system in Red Delicious apples. **J. Food Sci.**, 48: 1879-1880, 1983.
21. Nickerson, J.T. & A.J. Sinskey. **Microbiology of Foods and Processing**. USA, American Elsevier Publishing Co., 1974. p. 2.
22. Dixon, W.J. & F.J. Massey. **Introducción al Análisis Estadístico**. 2a. ed. México, Ed. McGraw-Hill, 1985, p. 362.
23. Díaz, M.D. & A.A. Alvarez. El cultivo de frutales en la Costa de Hermosillo. **SARH, INIA, CIANO**, 1: 27-34, 1982.

24. Flurkey, W.H. & J.J. Jen. Peroxidase and polyphenol oxidase activities in developing peaches. *J. Food Sci.*, **43**: 1826-1831, 1978.
25. Sciancalepore, V. & V. Longone. Polyphenol oxidase activity and browning in green olives. *J. Agric. Food Chem.*, **32**: 320-321, 1984.
26. Interesse, F.S., P. Ruggiero, G. Davella & F. Lamparelli. Partial purification and some propeties of wheat (*Triticum aestivum*) o-phenolase. *J. Sci., Fd Agric.*, **31**: 459-466, 1980.
27. Bradford, M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.*, **72**: 248, 1976.
28. Whitaker, J.R. & R.A. Bernhard. **Experiments for an Introduction to Enzymology.** Department of Food Science and Technology, University of California, Davis, The Whiber Press, 1985, p. 35.
29. Flurkey, W.H. & J.J. Jen. Hidrophobic adsorption chromatography of peach polyphenol oxidase. *J. Food Sci.*, **45**: 1622, 1980.
30. Layne, E. Spectrophotometric and turbidimetric methods for measuring proteins. In: **Methods in Enzymology**, Vol. 3 S.P. Colowick and N.O. Kaplan (Eds.). Nueva York, NY., Academic Press, Inc., 1957, p. 447.
31. Weurman, C. & T. Swain. Changes in the enzymic browning of Bramley's seedling apples during their development. *J. Sci. Fd Agric.*, **6**: 186-192, 1955.
32. Singleton, V.L. & J.H. Rossi. Colorimetry of total phenolic with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *J. Enol. Vitiv.*, **16**: 144-158, 1965.
33. Joslyn, M.A. & J.A. Goldstein. Changes in phenolic content in persimmons during ripening and processing. *J. Agric. Food Chem.*, **12**(6): 511-519, 1964.
34. Somogyi, M. Notes on sugar determination. *J. Biol. Chem.*, **195**: 19-23, 1952.
35. Association of Official Analytical Chemists. **Official Methods of Analysis of the AOAC.** 14th ed. Washington, D.C., The Association, 1984, p. 418-420.
36. Stelzig, D.A., S. Akhtar & S. Ribeiro. Catechol oxidase of Red Delicious apple peel. *Phytochem.*, **11**: 535-539, 1972.
37. Jen, J.J. & W.H. Flurkey. Hidrophobic chromatography of peach fruit polyphenol oxidase. *Hort Science*, **14**: 516-518, 1979.
38. Wissemann, S.W. & C.Y. Lee. Purification of grape polyphenoloxidase with hydrophobic chromatography. *J. Chromatography*, **192**: 232-235, 1980.
39. Vaughn, K.C. & S.D. Duke. Function of polyphenol oxidase in higher plants. *Physiol. Plant*, **60**: 106-112, 1984.
40. Hulme, A.C. **The Biochemistry of Fruits and Their Products.** Vol. I. London and New York, Academic Press, Inc., 1970, p. 4, 270.

**ENLATADO DE "HUMITAS" PREPARADAS CON MAÍZ
OPACO-2 COMPLEMENTADO CON LUPINO DULCE
(*Lupinus albus* var. Multolupa). CAMBIOS NUTRICIONALES
Y DE CALIDAD¹**

Lavinia Camacho², Eduardo Bañados³ y Evelyn Fernández³

**Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA),
Universidad de Chile,
Santiago, Chile**

RESUMEN

Se evaluó el efecto del maíz opaco-2 y de su complementación con harina de lupino en la calidad sensorial y valor nutricional de "humitas". Además, se estudiaron los cambios nutricionales y de calidad ocurridos durante la esterilización del producto enlatado en dos tamaños de envase. El maíz híbrido y opaco-2 se complementaron con 6^o/o, 8^o/o, 10^o/o y 12^o/o de harina de lupino, seleccionándose el 8^o/o como el nivel óptimo de complementación desde el punto de vista nutricional y sensorial. Luego se realizaron estudios de penetración de calor del producto enlatado en envases de hojalata N 2 y N 6, calculándose un tiempo total de proceso a 121°C, de 73 min y 147 min, respectivamente.

Las "humitas" preparadas con maíz híbrido y opaco-2, con y sin complementación con lupino, antes y después de la esterilización, se sometieron a análisis químico proximal, pH, acidez y lisina disponible; valoración biológica de la proteína mediante la razón proteínica neta (NPR) y digestibilidad, así como a evaluación sensorial de calidad y aceptabilidad.

Se concluyó que la complementación con 8^o/o de lupino mejora significativamente el valor nutricional del maíz híbrido pero no así el de maíz opaco-2. El proceso de esterilización afecta la disponibilidad de lisina en forma proporcional a la concentración del aminoácido y duración del tratamiento térmico. Por otro lado, afecta

Manuscrito modificado recibido: 20-5-88.

- 1 Presentado en el IV Congreso Internacional de Lupino, Geraldton, Australia. Agosto 15-22 de 1986.
- 2 Ing. Agrónomo M. S., Jefe de Proyectos Agroindustriales, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA), Universidad de Chile, Casilla 15138, Santiago 11, Chile.
- 3 Químicos Farmacéuticos, Universidad de Valparaíso, Chile.

negativamente la calidad biológica de la proteína y algunos atributos organolépticos. La complementación con 80/o de lupino también produjo cambios adversos en la calidad del producto.

INTRODUCCION

En América Latina se producen más de 112 millones de toneladas de cereales al año, de cuyo volumen el 50.80/o corresponde al maíz, producto que se destina principalmente a la alimentación humana (1). Esta gramínea no solamente tiene importancia social y económica por formar parte de la dieta básica de la Región Latinoamericana, sino también por ser un cultivo de subsistencia de muchos pequeños agricultores del Continente.

En Chile, el desarrollo de híbridos de altos rendimientos ha situado al maíz en el cuarto lugar de la producción de los 15 cultivos anuales (2). Sin embargo, en este país el consumo es estacional y son escasas las formas en que se consume. La "humita" es uno de los alimentos principales a base de maíz y es altamente aceptado por los diferentes estratos socioeconómicos de la población.

A pesar de la importancia del maíz en la alimentación de América Latina, esta gramínea es deficitaria en los aminoácidos esenciales lisina, triptofano y treonina, siendo uno de los cereales con menor contenido de proteínas (3). Mertz, Bates y Nelson (4) descubrieron el gen opaco-2 que permite la obtención de líneas de maíz con una mayor fracción de glutelina y, por lo tanto, de lisina.

El lupino, una leguminosa originaria de la América precolombina, según la especie, presenta contenidos de proteínas que fluctúan entre 290/o - 440/o, pero ésta es deficitaria en metionina (5).

En el trabajo que aquí se da a conocer, se estudiaron los efectos de la complementación del maíz con harina de lupino dulce y de maíz opaco-2 en la calidad sensorial y valor nutricional de "humitas", un alimento de consumo popular en Chile de características parecidas a los "tamales" de otros países de América Latina. Asimismo, se evaluaron las pérdidas nutricionales resultantes del enlatado de los productos en dos tamaños de envases.

MATERIAL Y METODOS

Materias Primas

Se utilizó maíz híbrido y maíz opaco-2 de la línea CIMMYT TL-81A, ambos procedentes del Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA) de Chile. El maíz opaco-2 usado es de endosperma blando, de rendimiento agrícola de 95 qq/ha, bajo condiciones experimentales. Para la complementación proteínica se usó harina de lupino dulce de la especie *Lupinus albus* var. Multolupa, proveniente del Campex, Gorbea, Temuco, Chile.

Procesamiento

El maíz opaco-2 y el híbrido se complementaron con 60/o, 80/o, 100/o y 120/o de harina de lupino sin desgrasar. Estos niveles se seleccionaron según los rangos descritos en la literatura, como mejoradores del valor nutricional y que producen cambios menores en la calidad organoléptica de los alimentos complementados (6, 7). Las mezclas se formularon con 100/o de sacarosa, 1.50/o de cloruro de sodio, 0.020/o de albahaca deshidratada y 120/o de margarina vegetal hidrogenada. Asimismo, se prepararon muestras control sin complementación con harina de lupino. Las mezclas se hidrataron en una relación 1:4 (polvo:agua), se sometieron a cocción, y luego a análisis de aminoácidos y a pruebas organolépticas de preferencia, para determinar el nivel óptimo de complementación con lupino en cada tipo de maíz.

Las mezclas para "humitas" preparadas con ambos tipos de maíz, con y sin complementación de lupino, se hidrataron en la relación 1:4. Luego se escaldaron hasta una consistencia de 5.5 cm/min medida con el consistómetro de Bostwick a 58°C y 80°C, correspondientes a las temperaturas de llenado en envases de hojalata N 2 y N 6, respectivamente. Una vez selladas las latas, se esterilizaron a 121°C, calculándose los tiempos de proceso según el método de Ball (8).

La esterilidad comercial se certificó por las pruebas microbiológicas estándar de la APHA (9).

Análisis Químico

Las materias primas se sometieron a análisis proximal de proteínas (N x 6.25), materia grasa, cenizas, fibra cruda y humedad, y de pH y acidez titulable, según los métodos estandarizados de la AOAC (10). El contenido de alcaloides del lupino se determinó por el método de Ruiz (11).

Para determinar el contenido de aminoácidos, las materias primas se hidrolizaron al vacío con HCl 6N durante 22 horas a 110°C. Se trataron según el método de Kohler y Palter (12), y se analizaron en un analizador de aminoácidos Hitachi Perkins Elmer, Modelo KLA-3B, basándose en el principio de Spackman, Stein y Moore (13).

Las materias primas y productos procesados se sometieron a análisis de lisina disponible usando el método de Hurrell, Lermond y Carpenter (14).

Valoración Biológica de la Proteína

El valor biológico de la proteína de las materias primas y productos terminados, se determinó usando el método de la razón proteínica neta (NPR) de Bender y Doell (15). Las dietas experimentales se estandarizaron para un 5.50/o de proteínas (N x 6.25), ya que este contenido proteínico fue el máximo posible de obtener. La dieta control fue caseína ANRC (N x 6.38).

La digestibilidad se analizó aplicando la técnica de Pellet y Young (16).

Análisis Organoléptico

Para seleccionar los niveles óptimos de complementación con harina de lupino para cada tipo de maíz, se llevó a cabo un análisis de preferencia, usando el test pareado con 20 panelistas entrenados ($N = 20$). La significancia a un $P < 0.05$ se analizó mediante las tablas de Roessler *et al.* (17) para juicios correctos.

El efecto de las variables ensayadas en la calidad sensorial de las muestras procesadas, se evaluó por el método scoring con puntajes del 1 al 9 (1: intensidad máxima, 9: intensidad mínima) y 12 jueces entrenados, analizándose los atributos de apariencia, color, textura, aroma y sabor. La aceptabilidad se determinó por la escala hedónica del 1 al 9 (1: me disgusta extremadamente, 9: me gusta extremadamente), con 24 panelistas sin entrenar. Las muestras se compararon con las correspondientes sin enlazar (18).

Análisis Estadístico

Para este propósito se utilizaron diseños de bloques completamente aleatorizados de estructura simple, con tres repeticiones experimentales. En los casos en que se detectaron diferencias significativas en el estadígrafo F, se aplicó la prueba de rango múltiple de Duncan a un nivel del 95% de significancia (19).

RESULTADOS Y DISCUSION

Composición Química de las Materias Primas

Los análisis químicos de las materias primas expuestos en la Tabla 1, indican que la diferencia entre los contenidos de proteínas y materia grasa de ambos tipos de maíz fue leve. En general, Arévalo *et al.* (20) informan que no existen diferencias importantes en la composición proximal del maíz común y la del opaco-2, coincidiendo con este estudio.

La harina de lupino utilizada acusó contenidos normales de proteínas y materia grasa, corroborando las observaciones de otros autores respecto a que esta leguminosa contiene niveles de materia grasa significativamente inferiores a la soja, y semejantes en lo que a proteínas se refiere (6, 7). Los otros componentes analizados también se encontraron en cantidades normales. La Tabla 1 muestra, asimismo, que el nivel de alcaloides del lupino fue inferior a 0.03 mg^o/o, que corresponde al máximo recomendado cuando el propósito es destinarlo a la alimentación humana (21).

Selección del Nivel Optimo de Complementación del Maíz con Harina de Lupino

La composición y el cómputo aminoacídico de las materias primas y sus mezclas se detallan en la Tabla 2, comparadas con el Patrón FAO/OMS/UNU 1985 (22). Según se aprecia, el gen opaco-2 produjo un aumento de 46% en el contenido de lisina del maíz, en relación al

TABLA 1

COMPOSICION QUIMICA PROMEDIO DE LAS MATERIAS PRIMAS "HUMITAS" DE MAIZ HIBRIDO Y OPACO-2, CON Y SIN SUPLEMENTACION DE HARINA DE LUPINO

Componente (g/100 g materia seca)	Materia prima			"Humitas" enlatadas (*)			
	Maíz		Harina de lupino	MH-O	MH-8	MOP-0	MOP-8
	híbrido	opaco-2					
Proteína (N x 6.25)	8.64	9.03	39.75	8.28	10.96	9.00	11.32
Materia grasa	4.60	5.45	10.91	48.47	49.26	48.51	48.19
Fibra cruda	1.53	1.48	2.09	1.48	1.42	1.48	1.42
Cenizas	1.52	1.57	4.20	5.66	5.76	5.26	5.28
Acidez (o/o H ₂ SO ₄)	—	—	—	0.055	0.058	0.060	0.056
pH	—	—	—	5.9	5.9	5.8	5.9
Calorías (por cálculo)	417	420	402	586	586	588	587
Alcaloides (mg ^o /o)	—	—	0.025				

(*) MH = Maíz híbrido; MOP = Maíz opaco-2; O = Sin harina de lupino y 8 = 8^o/o harina de lupino.

TABLA 2
COMPOSICION AMINOACIDICA DE LAS MATERIAS PRIMAS Y SUS MEZCLAS

Aminoácido (mg aa/gN)	Maíz híbrido					Maíz opaco-2					Harina de Patrón FAO/OMS/UNU	
	00/o L	60/o L	80/o L	100/o L	120/o L	00/o L	60/o L	80/o L	100/o L	120/o L	Lupino (L)	1985
Isoleucina	181	197	201	204	207	169	187	192	195	199	243	188
Leucina	688	641	629	619	610	556	544	540	538	535	504	406
Lisina	188	203	206	210	213	275	268	266	265	263	246	344
Metionina + cistina	206	185	179	174	170	207	187	182	177	173	123	188
Fenilalanina + tirosina	438	460	465	470	474	419	444	451	456	461	524	313
Treonina	244	226	221	217	213	256	236	231	226	222	173	250
Valina	263	242	238	234	228	275	253	247	242	237	182	250
Triptofano	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	63
Cómputo aminoacídico	55	59	60	61	62	80	78	77	77	77	65	100
	lisina	lisina	lisina	lisina	lisina	lisina	lisina	lisina	lisina	lisina	met + cis	-

ND = No se determinó.

híbrido utilizado. Este incremento fue inferior al informado por Mertz, Bates y Nelson (14), quienes encontraron 690/o más de lisina en el maíz opaco-2.

Al igual que en todas las leguminosas, el aminoácido limitante del lupino fue la metionina. En efecto, la harina de lupino presentó un contenido de aminoácidos azufrados inferior en 950/o al del maíz, deficiencia que se reduce al incorporarse el primero como complemento de la graminea. Al mismo tiempo, esta última se beneficia por el aporte de lisina del lupino. El maíz opaco-2, sin embargo, acusa un contenido de lisina (8.90/o), superior al de la leguminosa, por lo que éste no se beneficiaría como el híbrido con la incorporación de la harina de lupino.

De la información comentada se desprende que la complementación con lupino fue nutricionalmente beneficiosa para el maíz híbrido, pero no así para el opaco-2. No obstante, el cómputo aminoacídico de ambos tipos de maíz no se incrementó en forma importante a niveles de complementación superiores al 80/o. Por lo tanto, se seleccionaron los niveles de 60/o y 80/o de harina de lupino para ser sometidos a las pruebas de preferencia. La "humita" complementada con 80/o de harina de lupino acusó la mayor preferencia, independiente del maíz ocupado en la preparación del producto. El número de juicios que indicaron este resultado del producto fue de 16, cifra estadísticamente significativa al nivel de $P < 0.05$.

Efecto del Proceso de Esterilización en el Valor Nutricional de "Humitas"

Las Figuras 1 y 2 muestran las curvas y datos de penetración de calor a 121°C para "humitas" enlatadas en envases N 2 y N 6, en base a los cuales se calcularon tiempos totales de proceso de 73 min y 147 min, respectivamente. La penetración de calor no fue afectada por el tipo de maíz ni por la complementación con 80/o de harina de lupino.

La composición química de las "humitas" enlatadas se expuso en la Tabla 1, destacándose el incremento en el contenido de proteínas como resultado de la complementación con harina de lupino. Los niveles de materia grasa también aumentaron considerablemente por efecto de la formulación, lo que influyó en el contenido de calorías. Este último superó las exigencias de 500 calorías del Programa de Almuerzos Escolares de Chile. El contenido de cenizas aumentó con la incorporación de cloruro de sodio al producto. Finalmente los resultados de pH mostraron una relación adecuada con los de acidez titulable, clasificándose el producto como "alimento de baja acidez". Sin embargo, los cálculos de proceso térmico aseguraron su esterilidad comercial, ya que no se determinó desarrollo de gérmenes mesófilos ni termófilos, anaerobios ni aerobios, esporulados o no esporulados.

Como se aprecia en la Tabla 3, los valores de la razón proteínica neta (NPR) obtenidos en los ensayos biológicos en ratas alimentadas con maíz híbrido y harina de lupino, fueron estadísticamente iguales entre sí, y significativamente inferiores a los NPR obtenidos en maíz opaco-2 y en las mezclas con 80/o de harina de lupino. Estos últimos también difirieron entre sí, registrándose los mayores valores de NPR en el maíz opaco-2 que a su vez, fue estadísticamente igual a la caseína. Estos

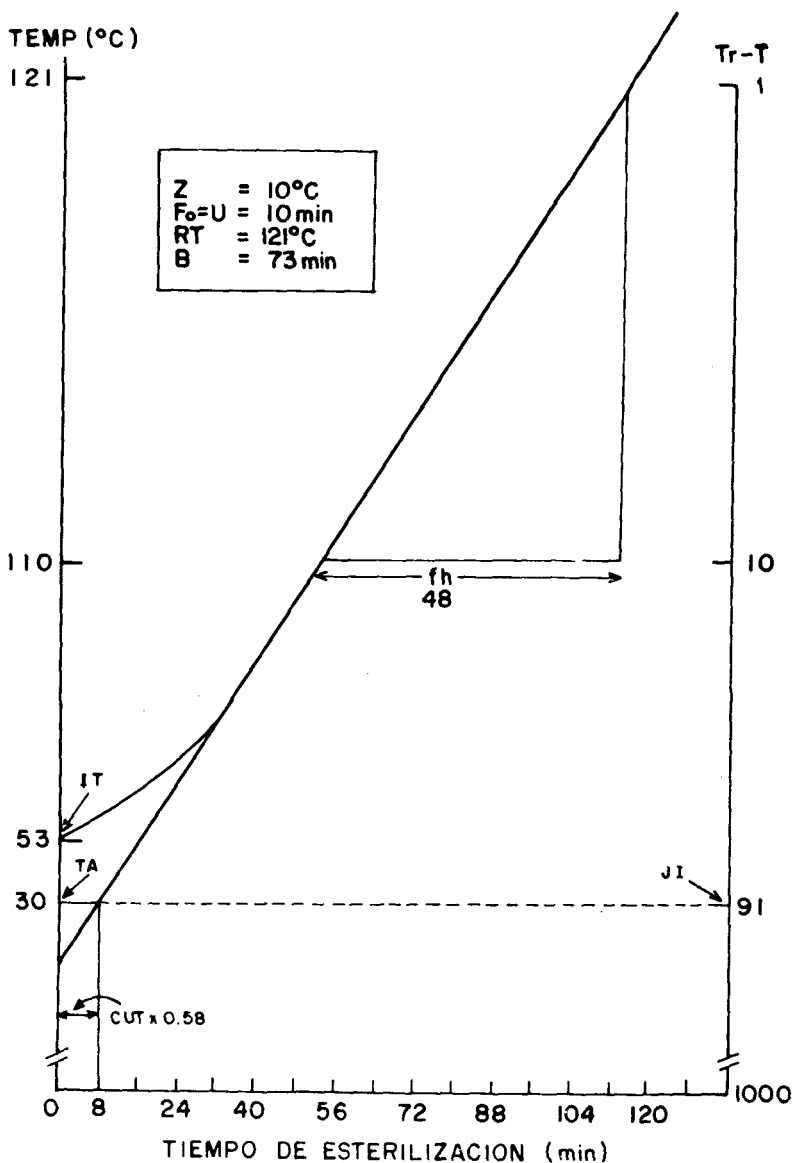


FIGURA 1

Curva de penetración de calor para "humita" de maíz híbrido u opaco-2, con o sin complementación con harina de lupino, enlatada en envase N 2

resultados dejan en evidencia la baja calidad de la proteína del lupino y del maíz híbrido, corroborando la deficiencia en metionina del primero, y de lisina en el segundo. El balance de aminoácidos mejora al complementarse el maíz con un 80/o de harina de lupino. Los resultados

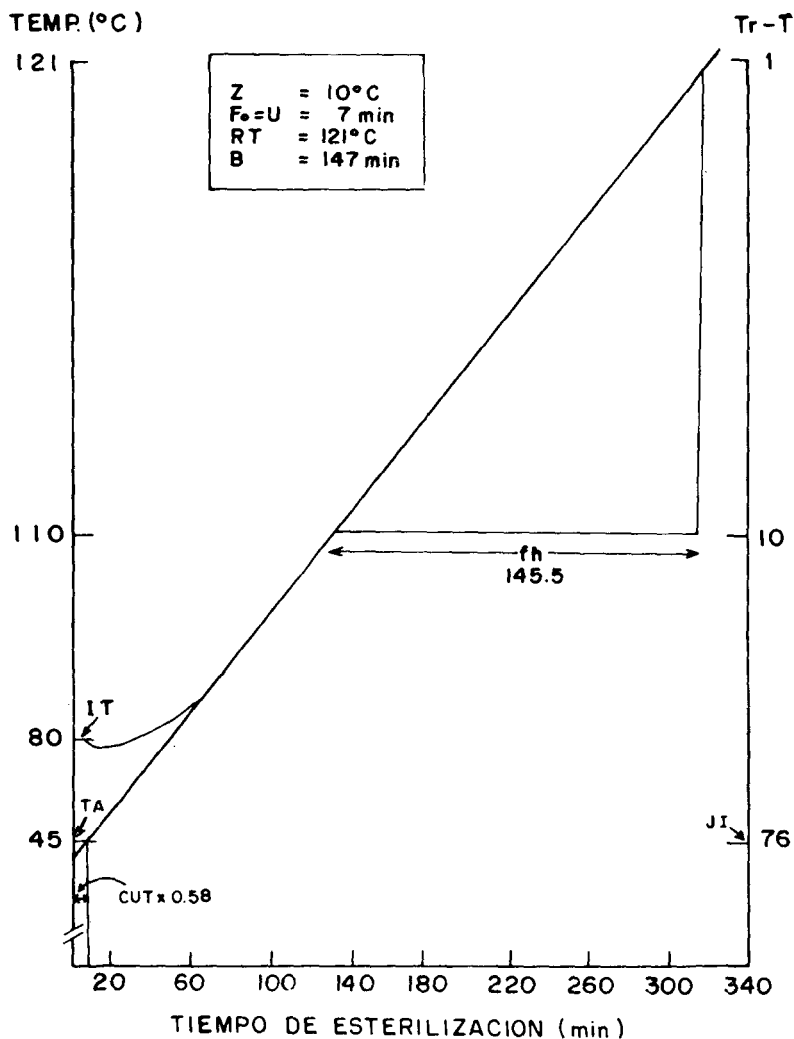


FIGURA 2

Curva de penetración de calor para "humita" de maíz híbrido u opaco-2, con o sin complementación con harina de lupino, enlatada en envase N6

también demuestran el impacto nutricional que aporta el gen mutante opaco-2 al maíz, ya que éste no requiere la complementación con lupino para mejorar significativamente el valor biológico de la proteína.

El proceso de esterilización aplicado en este estudio afectó significativamente los valores de NPR de las dietas con contenidos superiores de aminoácidos termosensibles, como lo es la lisina. Efectivamente, el proceso térmico sólo afectó débilmente la NPR de las dietas de maíz

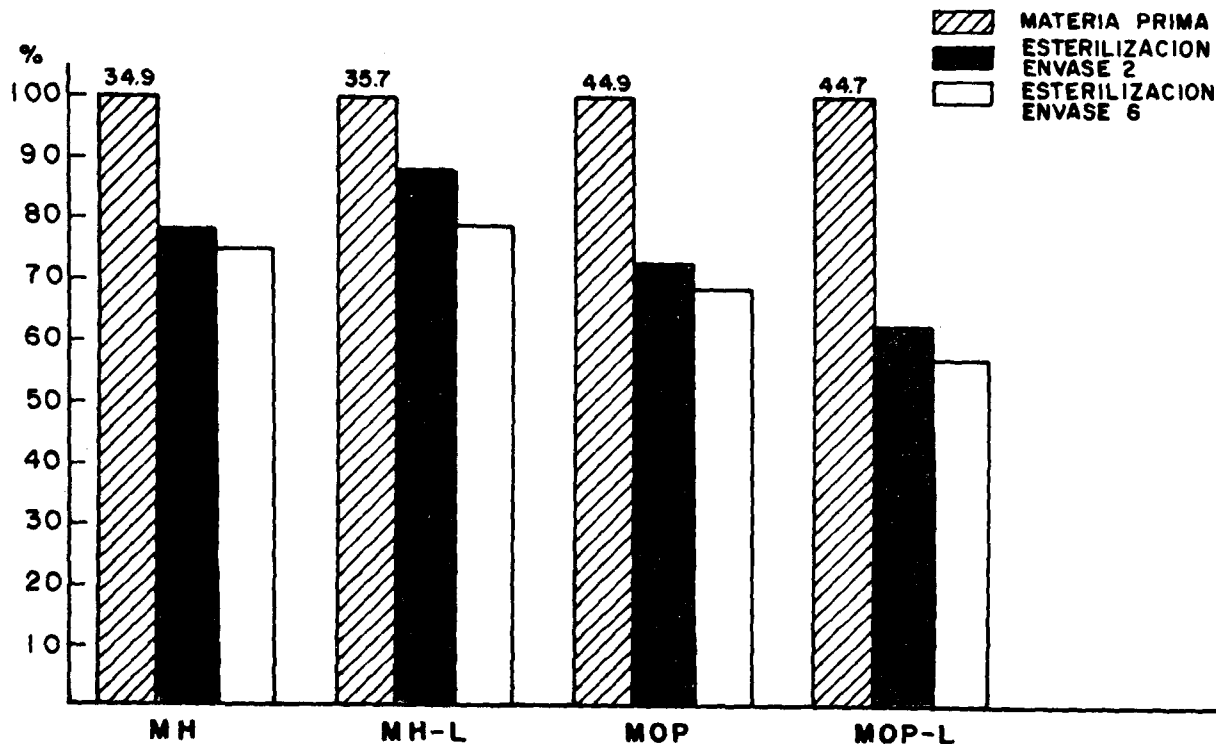


FIGURA 3

Pérdida porcentual debida a la esterilización de lisina disponible (mg/g proteína) en "humita" de maíz híbrido (MH) y opaco-2 (MOP), con o sin complementación de harina de lupino (-L)

TABLA 3

**CALIDAD BIOLÓGICA DE LA PROTEÍNA DE LAS "HUMITAS" DE
MAÍZ HÍBRIDO Y OPACO-2, CON Y SIN COMPLEMENTACIÓN CON LUPINO,
ANTES Y DESPUÉS DEL PROCESO DE ESTERILIZACIÓN***

Dieta	Harina de lupino o/o	Tiempo de proceso a 121°C (min)	Razón proteínica neta (NPR)	Digestibilidad o/o
1. Maíz híbrido	0	—	3.89 ^c	82.26 ^b
	0	73	3.57 ^c	74.14 ^c
	0	147	3.45 ^c	71.65 ^c
	8	—	4.21 ^b	82.43 ^b
	8	73	3.77 ^c	74.84 ^c
	8	147	3.75 ^c	73.18 ^c
2. Maíz opaco-2	0	—	5.14 ^a	82.18 ^b
	0	73	4.57 ^b	74.85 ^c
	0	147	4.52 ^b	74.45 ^c
	8	—	5.11 ^a	82.32 ^b
	8	73	4.48 ^b	74.49 ^c
	8	147	4.22 ^b	71.42 ^c
3. Caseína	—	—	5.32 ^a	95.47 ^a
4. Harina de lupino	100	—	3.11 ^c	79.41 ^b

* Las letras minúsculas indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

híbrido sin complementar, pero sí hubo una reducción significativa en los valores de este parámetro nutricional al complementar el maíz con 80/o de harina de lupino. El efecto negativo del proceso sobre la NPR fue significativamente mayor en las dietas de maíz opaco-2. El tiempo de proceso no afectó significativamente la razón proteínica neta de las diferentes dietas, lo que indicaría que la reducción máxima en el valor biológico de la proteína ocurrió a un tiempo B menor o igual a 73 min.

Según se aprecia, la Tabla 3 muestra que la caseína obtuvo un valor de digestibilidad significativamente superior al de las dietas de maíz híbrido u opaco-2, con o sin complementación con lupino. Asimismo, el proceso de esterilización también afectó significativamente la digestibilidad de las dietas.

La Figura 3 muestra las pérdidas porcentuales de lisina disponible en las diferentes muestras de "humitas". Se observó que el maíz opaco-2 sin procesar tenía el contenido más alto de este aminoácido, pero fue también el más afectado por la esterilización, ya que las pérdidas cuantitativas en la disponibilidad de lisina fueron mayores que en el maíz híbrido. Aun cuando no fue significativo, el tiempo de proceso tuvo un efecto de reducción en la lisina disponible de todas las muestras de

“humitas”. La tendencia de los resultados concuerda con Hurrell y Carpenter citados por Hoyem y Kvale (23) quienes esterilizaron a 121°C una mezcla de albúmina y glucosa durante 60 min y 120 min. Dichos autores concluyen que la magnitud de la reducción de lisina es dependiente de la concentración inicial del aminoácido y del tratamiento térmico aplicado.

Efecto del Proceso de Esterilización en la Calidad Sensorial de “Humitas”

Al analizar los resultados del análisis organoléptico que se detallan en la Tabla 4, se aprecia que ninguna de las variables estudiadas afectó significativamente la apariencia y el color del producto. La harina de lupino sí afectó significativamente la textura, aroma y sabor de la “humita” preparada con maíz híbrido, pero tuvo el mismo efecto en los dos últimos atributos cuando el producto se elaboró con maíz opaco-2. Este último acusó una textura superior a la de la “humita” con maíz híbrido, siendo menos afectada que la de este último por la complementación con lupino, y por los procesos aplicados en el autoclave.

El proceso de esterilización afectó significativamente la aceptabilidad de la “humita” elaborada con maíz híbrido, con y sin complementación con lupino. Este efecto no se detectó en los tratamientos con maíz opaco-2, en cuya aceptabilidad no influyó el proceso de conservación ni la complementación con lupino.

CONCLUSIONES

Los resultados generados en este estudio corroboran las deficiencias nutricionales del maíz común, y dejan en evidencia el significativo beneficio que se puede alcanzar al mejorar genéticamente esta gramínea mediante la introducción del maíz opaco-2. Aun cuando en Chile sólo se ha experimentado con líneas de maíz opaco-2 de endosperma blando y de bajos rendimientos agrícolas, existe material genético con potencial de producción semejante a los híbridos y con mayor resistencia al ataque de insectos, que podría utilizarse en alimentos que como el de este estudio son básicos en la dieta diaria de la población de escasos recursos.

La calidad proteínica del maíz común es factible de mejorar a través de su complementación con harinas de leguminosas, en este caso lupino. Sin embargo, el maíz opaco-2 por sí mismo supera en este aspecto al maíz híbrido complementado, lo que confirma la importancia que el primero puede alcanzar en la dieta del latinoamericano.

El modelo de alimento objeto de estudio en este trabajo, coincide con las raciones enlatadas que distribuye el Programa de Almuerzos Escolares en Chile, las cuales se enlatan en el envase N 6 y la forma más común de propagación de calor es la conducción. Según se demostró en esta investigación, ambas condiciones provocan pérdidas nutricionales y sensoriales de consideración en los alimentos que se enlatan. Las degradaciones causadas por el autoclave deberían ser materia de atención, si se considera que la cobertura del Programa en Chile es de 250,000 almuerzos diarios.

TABLA 4

**CALIDAD SENSORIAL Y ACEPTABILIDAD DE LAS "HUMITAS" ANTES Y DESPUES DEL
PROCESO DE ESTERILIZACION**

Producto*	Tiempo de proceso a 121°C (min)	Atributo**					
		Apariencia	Color	Textura	Aroma	Sabor	Aceptabilidad
MH-0	—	5.80 ^a	4.73 ^a	6.02 ^a	5.22 ^a	5.75 ^a	5.95 ^a
MH-0	73	5.81 ^a	4.15 ^a	4.92 ^b	4.31 ^b	4.23 ^b	5.57 ^a
MH-0	147	5.77 ^a	4.08 ^a	5.15 ^b	4.08 ^b	3.92 ^c	3.90 ^b
MH-8	—	6.33 ^a	4.70 ^a	5.15 ^b	4.55 ^b	4.80 ^b	5.39 ^a
MH-8	73	5.54 ^a	4.15 ^a	4.69 ^b	4.46 ^b	3.54 ^c	4.14 ^b
MH-8	147	5.54 ^a	4.30 ^a	4.54 ^b	4.08 ^b	3.77 ^c	3.90 ^b
MOP-0	—	5.88 ^a	4.69 ^a	5.56 ^{ab}	4.44 ^b	5.00 ^b	5.13 ^a
MOP-0	73	6.25 ^a	4.33 ^a	6.17 ^a	4.32 ^b	4.44 ^b	5.92 ^a
MOP-0	147	5.83 ^a	4.25 ^a	5.75 ^{ab}	4.67 ^b	4.75 ^b	5.00 ^a
MOP-8	—	6.31 ^a	4.63 ^a	5.50 ^{ab}	4.56 ^b	4.94 ^b	5.29 ^a
MOP-8	73	6.08 ^a	4.17 ^a	5.68 ^{ab}	4.35 ^b	4.42 ^b	5.36 ^a
MOP-8	147	6.17 ^a	4.00 ^a	4.83 ^b	4.42 ^b	4.50 ^b	5.14 ^a

* MH = Maíz híbrido; MOP = Maíz opaco-2; 0 = Sin harina de lupino; 8 = 80/o Harina de lupino.

** Las letras minúsculas indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

SUMMARY

**CANNING OF "HUMITAS" PREPARED WITH OPAQUE-2 CORN,
COMPLEMENTED WITH SWEET LUPIN (*Lupinus luteus* var. Aurea/Weico).
NUTRITIONAL QUALITY CHANGES**

The effects of opaque-2 corn and the complementation with lupin flour on the sensory quality and nutritive value of "humitas" were evaluated. Moreover, the nutritional and quality changes which occur during the retorting of the product canned in two can sizes, were studied. Hybrid and opaque-2 corn were replaced with 60/o, 80/o, 100/o and 120/o lupin flour, being 80/o the complementation level with the best sensory and nutritional quality. Heat penetration studies of the product canned in N2 and N6 tin cans, were carried out. Total process time at 121°C was 73 min and 147 min, respectively.

"Humitas" prepared with hybrid and opaque-2 corn, with and without 80/o lupin flour, prior and after sterilization, were subjected to proximate analysis, pH, titratable acidity and available lysine determinations. Biological evaluation of the protein by the net protein ratio (NPR) and digestibility, as well as organoleptic quality and acceptability analyses were also determined. It was concluded that the complementation with 80/o lupin flour improves significantly the nutritional value of hybrid corn "humitas", but not that of opaque-2 corn. The canning process affected lysine availability and was directly related to the amino acid concentration, and to the retorting duration. On the other hand, the thermal processing adversely affected the biological quality of protein and some sensory attributes. The 80/o lupin complementation was also detrimental for the organoleptic quality of the product.

BIBLIOGRAFIA

1. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Anuario de Producción. Roma, FAO, 1985.
2. Oficina de Planificación Agrícola. El Sector Agrícola Chileno. Políticas y Resultados. Santiago, Ministerio de Agricultura, 1986.
3. Essen, A. Estimation of protein quality and quantity in corn (*Zea mays* L.) by assaying protein in two solubility fractions. J. Agric. Food Chem., 28: 529-532, 1980.
4. Mertz, E., L. Bates & O. Nelson. Mutant gene changes protein composition and increases lysine content of maize endosperm. Science, 145: 279-280, 1964.
5. Yáñez, E., V. Gattás & D. Ballester. Valor nutritivo del lupino y su potencial como alimento humano. Arch. Latinoamer. Nutr., 29: 510-520, 1979.
6. Gardiman, G. & D. Ballester. Fideos enriquecidos con harina desgrasada de lupino dulce (*L. albus* cv. Multolupa). I. Aspectos reológicos y nutricionales. Rev. Chil. Nutr., 12: 91-96, 1964.
7. Ballester, D., I. Zacarías, E. García & E. Yáñez. Baking studies and nutritional value of bread supplemented with full-fat sweet lupine flour (*L. albus* var. Multolupa). J. Food Sci., 49: 14-16, 1984.
8. Toledo, R. En: Fundamentals of Food Processing Engineering. Connecticut, The Avi Publishing Co., 1980, p. 304.
9. American Public Health Association. Standard Methods for the Microbiological Examination of Foods. New York, N. Y., APHA, 1976.

10. Association of Official Analytical Chemists. **Official Methods of Analysis of the AOAC**. Washington, D. C., The Association, 1980.
11. Ruiz, L. Alkaloids analysis of sweet lupin seed by G. L. C. **New Zealand J. Agr. Res.**, **21**: 241-243, 1978.
12. Kohler, G. & R. Palter. Studies on methods for amino acids analysis of wheat products. **Cereal Chem.**, **44**: 512-520, 1967.
13. Spackman, D., W. Stein & S. Moore. Automatic recording apparatus for use in the chromatography of aminoacids. **Analytical Chem.**, **30**: 1190-1206, 1958.
14. Hurrell, R., P. Lermond & K. Carpenter. Reactive lysine in foodstuff as measured by a rapid dye-binding procedure **J. Food Sci.**, **44**: 1221-1227, 1979.
15. Bender, A. & B. Doell. Biological evaluation of proteins: A new aspect. **Brit. J. Nutr.**, **2**: 140-148, 1957.
16. **Evaluación Nutricional de Alimentos Proteínicos**. Peter L. Pellet y Vernon Young (Eds.). Tokyo, Japón, Universidad de las Naciones Unidas, 1980, 175 p. (WHTR-3 UNUP-129).
17. Roessler, E., R. Pangborn, J. Sidel & H. Stone. Expanded statistical tables for estimating significance impaired preference, paired difference, duo-trio and triangle test. **J. Food Sci.**, **43**: 940-943, 1978.
18. Amerine, M., R. Pangborn & E. Roessler. **Principles of Sensory Evaluation of Foods**. New York, N. Y., Academic Press, Inc., 1965, p. 602.
19. Snedecor, G. & W. Cochran. **Métodos Estadísticos**. México, D. F. Editorial Continental, 1964, p. 626.
20. Arévalo, L., M. Ruiz, S. Ferreira & G. Riveros. Valoración de lisina y triptofano en diferentes variedades de maíz normal y opaco-2. **Rev. Colombiana de Cs. Quim. y Farm.**, **3**: 37-63, 1979.
21. Ballester, D., E. Yáñez, R. García, S. Erazo, F. López, E. Haardt, S. Comejo, A. López, J. Pokniak & C. Chichester. Chemical composition, nutritive value and toxicological evaluation of two species of sweet lupin (*L. albus* and *L. luteus*). **J. Agr. Food Chem.**, **32**: 601-607, 1980.
22. Organización Mundial de la Salud. **Recomendaciones de Energía y Proteína**. Ginebra, FAO/OMS/UNU, 1985. (Informe Técnico 724).
23. Hoyem, T. & O. Kvale. **Physical, Chemical and Biological Changes in Food Caused by Thermal Processing**. London, Applied Sci. Publishers, 1977, p. 399.

COMPOSICION QUIMICA Y CALIDAD BIOLOGICA DE HARINA DESGRASADA DE AVELLANA

*Mario Villarroel T.¹, Edith Biolley H.², Ricardo Schneeberger K.¹,
Digna Ballester C.³ y Sergio Santibáñez R.¹*

Universidad de la Frontera e
Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA),
Universidad de Chile
Santiago, Chile

RESUMEN

Se proporcionan los resultados de la composición química y calidad biológica de la harina desgrasada de avellana. Las muestras analizadas contenían cantidades significativas de proteínas (19^o/o), comparables a las de harina de leguminosas, mayores que las de cereales y menores que las de tortas de oleaginosas.

El aceite extraído de la semilla se analizó, obteniéndose los resultados promedio siguientes. Índice de refracción, 1.47; saponificación No. 184.8; yodo, No. 85.0.

La composición promedio de los ácidos grasos obtenidos por cromatografía de gas líquido fue:

— Acido palmítico	2.3 ^o /o
— Acido palmitoleico	37.0 ^o /o
— Acido estéarico	0.5 ^o /o
— Acido oleico	39.5 ^o /o
— Acido linoleico	6.9 ^o /o
— Acido linolénico	1.1 ^o /o
— Acido eicosanoico	2.3 ^o /o
— Acido eicosaenoico	4.6 ^o /o
— Acido docosaenoico	3.4 ^o /o
— Acido tetraicosanoico	0.3 ^o /o

Manuscrito modificado recibido: 12-4-88.

- 1 Departamento de Ingeniería Química, Universidad de La Frontera, Casilla 54-D, Temuco, Chile.
- 2 Departamento de Nutrición, Universidad de La Frontera.
- 3 Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA), Universidad de Chile, Casilla 15138, Santiago, Chile.

Estos resultados indican un aceite de buena calidad debido a su bajo contenido de ácido linoléico.

El valor nutritivo de la torta desgrasada, medido en ratas, dio una razón proteínica neta (RPN) de 3.58, inferior al valor correspondiente a la caseína (4.10). La digestibilidad proteínica verdadera medida en ratas, dio un valor de 730/o, en comparación con 950/o para caseína.

Las cantidades de hierro y fósforo son, comparativamente, más bajas que las informadas para harina de raps y de maravilla.

INTRODUCCION

Para poder resolver el problema del déficit global de proteínas (1-6) se ha intentado en forma complementaria la utilización de ciertos productos secundarios de procesos de elaboración industrial. Entre éstos, en Chile se han considerado la soya, el girasol, el raps y el lupino, los cuales a excepción de este último, se utilizan fundamentalmente como fuente de aceites comestibles (4, 7). Teniendo en cuenta la necesidad de orientar la producción de alimentos hacia la búsqueda de productos ricos en proteínas y ácidos grasos insaturados tanto a nivel nacional como en otros países, se ha estimado oportuno estudiar el avellano chileno (*Gevuina avellana*), recurso en la actualidad subexplotado, y que crece en forma silvestre en una extensa área geográfica (2, 8). Esta especie es monotípica de Chile y según su clasificación botánica, pertenece a la familia de las *Proteaceas*. Su fruto es muy apetecido y representa un importante consumo en la zona Sur en general.

Desde el punto de vista de su composición química, destaca el apreciable contenido de aceite del fruto, el que representa aproximadamente 500/o de su peso total, libre de cáscara (8). Datos obtenidos en la Estación Experimental de Investigaciones Agropecuarias CARILLANCA (IX Región, Chile), permiten estimar que en esta región existen más o menos 13,500 ha de bosques nativos, en donde el avellano está presente en un 800/o de esta superficie estimada. Esto representa una producción aproximada de 7,000 ton de frutos de avellanas. Suponiendo que sólo el 300/o estuviera disponible para su procesamiento en forma de aceite, se obtendría una cifra estimada de 1,200 ton de aceite, quedando además un residuo o torta, que podría destinarse a la alimentación animal y humana.

Considerando estos antecedentes, hemos estimado oportuno estudiar, por un lado, la composición química y la calidad biológica de la harina desgrasada de avellanas (H.D.A.) que queda, después de la extracción del aceite, con miras a impulsar su utilización como alimento humano, y por el otro, la calidad del aceite extraído al fruto del avellano.

MATERIAL Y METODOS

Harina Desgrasada de Avellanas (H.D.A.)

Para este experimento se utilizaron semillas de avellanas maduras y seleccionadas, recogidas en la zona de Victoria (IX Región, Chile).

Las semillas desprovistas de corteza se secaron en estufa a 60°C durante ocho horas, y luego se molieron en un molino eléctrico, hasta obtener un polvo que se pasó por tamiz de 1 mm mesh de abertura. Luego se procedió a extraer el contenido de aceite usando Nafta 3 X Shell como solvente, mediante un proceso discontinuo tipo Soxhlet. La harina resultante se desolventizó a 60°C y se almacenó en bolsas de plástico a 5°C hasta su análisis posterior. La presencia del producto molido era la de un polvo de color amarillo pálido uniforme, de olor y sabor agradables. La Figura 1 esquematiza el procedimiento seguido para la obtención de la H.D.A.

Análisis Químicos

Se realizaron los siguientes análisis: humedad, cenizas totales, extracto etéreo y fibra cruda de acuerdo a los procedimientos descritos en la AOAC (9).

El nitrógeno total se determinó por el método de Kjeldahl, destilando y recogiendo el amoniaco en ácido bórico al 40/o más mezcla de indicadores (10). El factor utilizado para convertir el dato de nitrógeno en proteínas, fue 6.25.

La determinación de los elementos minerales (Na, K, Ca, Mg, Fe, Cu, Zn, Mn y P) se llevó a cabo previa calcinación de la muestra a 450°C y disolución posterior de las cenizas en HCL al 200/o. Todos los minerales, excepto el fósforo, fueron determinados por espectrofotometría de absorción atómica, usando un espectrofotómetro G.B.C., Modelo 903. El contenido de fósforo se determinó espectrofotométricamente (11).

Contenido Energético

El valor calórico se calculó aplicando los coeficientes de Atwater, 4-9-4, para proteínas, lípidos e hidratos de carbono, respectivamente.

Caracterización del Aceite de Avellanas

Índice de refracción — Este se estableció empleando el refractómetro universal de Abbé, a 25°C (10).

Índice de yodo — En este caso se aplicó el método de Wijs (12).

Índice de saponificación — Se usó el método de Koettstorfer (12).

Composición de los ácidos grasos — Se determinó por cromatografía de gas líquido. Para este análisis se prepararon los ésteres metílicos con solución de BF₃ al 140/o en metanol. Las condiciones de trabajo del cromatógrafo fueron las siguientes: fase estacionaria: 100/o DEGS — PS sobre Supelcoport 100/120 mesh; columna de vidrio de 10 pies de largo y 2 mm diámetro interno; gas de arrastre: nitrógeno; flujo gas de arrastre: 30 ml/minutos; temperatura inicial de columna: 160°C; T° final 210°C; velocidad de incremento temperatura: 4°C por minuto; tiempo: 48 minutos, presión de hidrógeno: 20 psi; tipo de detector: ionización de llama; determinación de área: integrador con microcomputador ICI-100; instrumento: cromatógrafo Perkin Elmer Sigma 300.

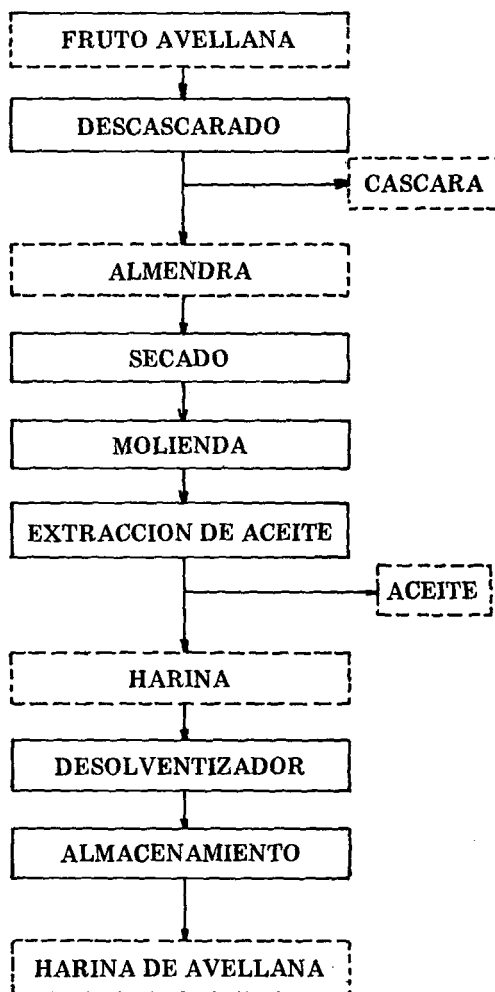


FIGURA 1

Procedimiento aplicado para la obtención de harina desgrasada de avellans (H.D.A.)

Determinaciones Biológicas

Método de razón proteínica neta (NPR) — La técnica empleada fue la de Bender y Doell (13).

Animales — Se emplearon 24 ratas albinas de 21 días de edad de la Cepa Wistar. Los pesos iniciales fluctuaban entre 43 y 57 gramos, con un promedio de 50 gramos. Para el experimento se dividieron en tres grupos. El grupo A, constituido por ocho animales, recibió la dieta de H.D.A. El grupo B, formado por ocho ratas, recibió dieta control de caseína. El grupo C, fue alimentado con dieta apteínica. Durante los 14 días que

duró la experiencia, los animales fueron alojados en jaulas metabólicas individuales, en un ambiente de temperatura controlada. Las dietas y el agua se administraron *ad libitum*. Se controló peso e ingesta a los siete y 14 días.

Dietas — Las dietas de H.D.A. y de caseína se prepararon al 100/o de concentración proteínica (14). Su composición se presenta en la Tabla 1.

TABLA 1
COMPOSICION DE LAS DIETAS DE H.D.A. Y DE CASEINA

Componentes	Dieta	
	Control	H.D. A.
Caseína ^a	11.7	—
H.D.A.	—	52.0
Aceite	10.0	10.0
Vitaminas ^b	1.0	1.0
Sales minerales ^b	4.0	4.0
Celulosa	5.0	5.0
Maicena	68.3	28.0

a Nutritional Biochemicals Corp., Cleveland, Ohio, EUA.

b Chapman, D. G., R. Castillo & J. A. Campbell (15).

En la segunda semana se recolectaron las deposiciones, las cuales se pesaron, secaron y molieron, extrayéndose una alícuota para la determinación de nitrógeno, en cada tipo de dieta (9). La calidad de la proteína de la H.D.A., se valoró relacionando ganancia de peso del grupo testigo y pérdida de peso del grupo apteínico, con la ingesta del grupo problema (15, 16). La digestibilidad verdadera (D.V.), se determinó en forma simultánea al desarrollo de la técnica NPR, cuantificando el nitrógeno ingerido y el nitrógeno fecal, en ratas con dieta en ensayo y ocho ratas del grupo apteínico (17, 18).

La fórmula para su determinación fue la siguiente:

$$D = \frac{I - (F - F_K) * 100}{I}$$

donde F y F_K representan los contenidos de nitrógeno fecal de las ratas con dieta de ensayo y apteínica, respectivamente. I representa el nitrógeno ingerido.

Análisis estadísticos — Los resultados obtenidos en el ensayo de NPR fueron sometidos a un análisis de varianza y prueba de Duncan (19) a un nivel de P ≤ 0.05 de significancia.

TABLA 2

COMPOSICION Y VALOR CALORICO DE LA TORTA DE AVELLANA, SU COMPARACION CON PRODUCTOS ALIMENTICIOS CONVENCIONALES Y NO CONVENCIONALES
(g x 100 g)

Componentes	H.D.A.	Arveja*	Frijol	Harina de		Trigo*	Arroz*	Torta de		Harina de soya**
				Garbanzo*	Lenteja*			Raps fría**	Maravilla fría**	
Humedad	3.8	9.6	8.9	9.4	9.2	13.5	12.3	7.5	6.8	7.0
Proteínas (N x 6.25)	19.2	23.6	18.1	16.1	20.9	8.0	6.4	36.7	43.7	51.5
Cenizas totales	5.1	3.0	7.7	7.1	6.5	0.5	0.5	6.1	8.7	5.8
Fibra cruda	8.6	5.6	1.2	0.8	1.2	0.5	0.3	1.3	10.8	3.0
Extracto etéreo	4.0	1.2	1.4	3.7	1.6	0.7	8.0	10.9	1.7	1.0
ENN	59.3	57.0	62.7	62.9	60.2	77.5	79.7	37.4	29.0	30.0
Contenido calórico (kcal/100 g)	350	324	330	343	330	349	363	395	306	335.0

* Referencia (4).

** Referencia (1).

RESULTADOS Y DISCUSION

Composición Química de la H.D.A.

La composición química proximal de la H.D.A. se detalla en la Tabla 2, en la que cada resultado es el promedio de tres determinaciones. Estos datos reflejan un importante contenido proteínico (19^o/o).

De acuerdo a la información consignada en dicha Tabla, el aporte proteínico de la H.D.A. es comparable al de las harinas de leguminosas, y notoriamente superior al contenido proteínico de los cereales, aunque inferior al de las tortas de oleaginosas (1).

La H.D.A. acusa también un contenido mayor de fibra cruda que las harinas de leguminosas, cereales y tortas de oleaginosas, condición que podría interferir la utilización del producto (15). Asimismo, su contenido energético, es comparable al de las harinas de leguminosas, cereales y tortas de oleaginosas, como maravilla y soya.

La composición de ácidos grasos establecida en el aceite de avellana (Tabla 3) presenta características relativamente comparables a la informada en la literatura (21). Cabe destacar en ella, el alto contenido de ácido oleico (39^o/o) y palmitoleico (37.1), este último encontrado solamente en aceites de origen marino y, la baja concentración de ácido linoleico (1.1^o/o) que permite clasificar a este aceite como de buena calidad y estabilidad (21) frente al proceso de enranciamiento.

Los resultados de la composición mineral que se exponen en la Tabla 4 indican que el sodio es el elemento mineral más abundante en la harina desgrasada de avellanas, con una concentración de 3,680 mg/kg, seguido de fósforo. Entre los macroelementos la concentración más baja corresponde al potasio con 410 mg/kg. Respecto de los microelementos, el manganeso presenta la concentración más alta, seguido de hierro. Los hallazgos referentes al fósforo y al hierro fueron inferiores a los notificados en el caso de las harinas desgrasadas de raps y maravilla.

Calidad Biológica

Los datos de NPR y D.V. constatados en nuestro experimento, se consignan en la Tabla 5. Desde el punto de vista biológico, la calidad de los componentes proteínicos de la H.D.A. medida en ratas a través de la técnica NPR dio un valor de 3.58, cifra que es significativamente más baja que el valor obtenido para caseína (4.10). No obstante, en términos porcentuales, dicho valor representa 87^o/o respecto de caseína.

La cifra obtenida para la razón proteínica neta (NPR) de 3.58 puede explicarse como sigue:

- a) La ingesta de la dieta, tanto total como proteínica de H.D.A. significativamente inferior respecto al grupo que consumió caseína, lo que a su vez se reflejó en un menor incremento de peso corporal (Tabla 5).
- b) Al comparar la composición aminoacídica de la H.D.A. con el patrón FAO/OMS 1981, se aprecia que la lisina es el aminoácido limitante, con un puntaje químico de 82 (22), y

TABLA 3

CARACTERISTICAS Y COMPOSICION DEL ACEITE DE AVELLANAS

Análisis

Características

Indice de yodo	85.0
Indice de saponificación	184.8
Indice de refracción a 20°C	1.47
Residuos insaponificables, o/o	0.20

Acidos grasos (Peso o/o ésteres metílicos)

C16 : 0 Acido palmítico	2.3
C18 : 0 Acido esteárico	0.5
C20 : 0 Acido eicosanoico	2.3
C24 : 0 Acido tetraeicosanoico	0.3
	<hr/> 5.4

Total ácidos saturados

C16 : 1 Acido palmitoleico	37.0
C18 : 1 Acido oleico	39.5
C18 : 2 Acido linoleico	6.9
C18 : 3 Acido linolénico	1.1
C20 : 1 Acido eicosaenoico	4.6
C22 : 1 Acido docosaenoico	3.4
	<hr/> 92.5

Total ácidos insaturados

TABLA 4

COMPOSICION MINERAL DE HARINA DESGRASADA DE AVELLANAS

(mg/kg)^a

Na	K	Ca	Mg	P	Cu	Mn	Zn	Fe
3680	410	972	2860	2450	23	41	17	19

^a Valores promedio de tres determinaciones.

TABLA 5

DIFERENCIA DE PESO, INGESTA TOTAL, INGESTA PROTEINICA, DIGESTIBILIDAD VERDADERA Y APARENTE, EN RATAS ALIMENTADAS CON H.D.A. Y CASEINA AL CABO DE 14 DIAS

Fuente proteínica	Δ Peso* g	Ingesta total	Ingesta proteínica	NPR	Digestibilidad verdadera	Digestibilidad aparente
H.D.A.	25 ± 4.0^A	89.4 ± 5.1^A	10.4 ± 0.6^A	3.58 ± 0.40^B	85.5 ± 2.9^A	80.9 ± 3.12^A
Caseína	40.6 ± 5.9^C	129.7 ± 10.5^C	12.8 ± 1.10^C	4.10 ± 0.30^B	95.4 ± 1.44^B	85.2 ± 1.24^B
Aproteínica	-11.6 ± 4.1^B	56.9 ± 5.4^B	2.0 ± 0.2^B	—	—	—

* El peso promedio de los grupos experimentales fue de 35.5 g.
La pérdida de peso promedio del grupo sin proteína fue de 11.6 g.

a Promedio \pm desviación estándar de ocho observaciones.

b Letras diferentes en las columnas son estadísticamente diferentes ($P \leq 0.05$).

- c) Los valores encontrados para digestibilidad aparente y verdadera fueron 81 y 85.5, respectivamente, resultando ser significativamente inferiores respecto de la caseína (Tabla 5). Ello determinó que el contenido de fibra cruda de este producto afectase la utilización biológica de H.D.A. (23).

Finalmente, los valores de digestibilidad aparente (D.A.) y verdadera (D. V.), se consideran buenos comparativamente, tratándose de un producto vegetal obviamente inferior a la caseína.

SUMMARY

CHEMICAL COMPOSITION AND BIOLOGICAL QUALITY OF DEFATTED HAZELNUT FLOUR

The results of the chemical composition and biological quality of defatted hazel nut flour are shown. The samples analyzed contained significant amounts of proteins (190/o) comparable to legume flour, higher than cereals and lower than defatted oleaginous flours.

The oil extracted from the seed was analyzed and the average results obtained were the following: Refraction index, 1.47; saponification No. 184.8; iodine No. 85.0.

The average composition of the fatty acids obtained by gas liquid chromatography was:

— Palmitic acid	2.30/o
— Palmitoleic acid	37.00/o
— Stearic acid	0.50/o
— Oleic acid	39.50/o
— Linoleic acid	6.90/o
— Linolenic acid	1.10/o
— Eicosanoic acid	2.30/o
— Eicosaenoic acid	4.60/o
— Docosenoic acid	3.40/o
— Tetraeicosanoic acid	0.30/o

These results indicate a good-quality oil due to the low content of linolenic acid.

The nutritive value of the defatted meal measured in the rats gave a net protein ratio (NPR) of 3.58, lower than the corresponding casein value (4.10). The true protein digestibility measured in the rat gave a value of 7.30/o, compared to 950/o for casein.

The amounts of iron and phosphorous are comparatively lower than those reported for rape-seed meal and sunflower meal.

BIBLIOGRAFIA

1. Garrido, R. N. *Agroindustria y Desarrollo*. Facultad de Ciencias Económicas y Administrativas, Universidad de Chile. Santiago, Chile, Editorial Universitaria, 1975.

2. Instituto de Investigaciones Tecnológicas (INTEC). Estudios de Industrialización de la Avellana Chilena. Santiago, Chile, 1982.
3. Mönckeberg, B. F. Estudio sobre nuevas fuentes de proteínas para consumo humano. *Rev. Chil. Ped.*, **38**: 205-213, 1983.
4. Pak, D. N. **Proteína de Oleaginosas para Consumo Humano**. Santiago, Chile, Instituto de Nutrición y Tecnología de Alimentos (INTA).
5. Uauy, R. **Los Requerimientos Nutricionales Humanos**. Apartado Docente No. 132/78. Santiago, Chile, Sec. Gen. Docencia, INTA, 1983.
6. Yáñez, E., D. Ballester, *et al.* Estudio biológico de nuevas fuentes de proteínas para consumo humano. *Nutr. Bromatol. Toxicol.*, **6**: 85, 1967.
7. Mönckeberg, B. F. Perspectivas nutricionales para los próximos 20 años. *Rev. Chil. Nutr.*, **10**: 41-53, 1982.
8. Instituto de Investigaciones Tecnológicas (INTEC). **Investigación y Aprovechamiento de Recursos Silvoagropecuarios no Tradicionales en la IX Región**. Tomo 1. Santiago, Chile, 1984.
9. Association of Official Analytical Chemists. **Official Methods of Analysis of the AOAC**. Washington, D. C., The Association, 1980.
10. Schmidt-Hebbel, H. **Ciencia y Tecnología de los Alimentos**. Santiago, Chile, Editorial Universitaria, 1980.
11. González, C. & M. Báez. Método de determinación de fósforo en tejidos vegetales. *Agroquímica Itala*, **14**(15), 1972.
12. American Oil Chemists Society. **Official and Tentative Methods (Ce 2-66)**. Champaign, Illinois, AOCS, 1974.
13. Bender, A. E. & B. H. Doell. Biological evaluation of proteins: a new aspect. *Br. J. Nutr.*, **11**: 140-148, 1957.
14. Chapman, D. G., R. Castillo & J. A. Chambell. Evaluation of protein in foods. I. A method for determination of protein efficiency ratios. *Can. J. Biochem. Physiol.*, **37**: 679, 1959.
15. Chapman, D. G. Especificaciones sobre mezcla de vitaminas y minerales a utilizar en ensayos biológicos. U.S.P. XIV. *Can. J. Biochem. Physiol.*, **37**: 333-333, 1959.
16. Tagle, M. A. **Nutrición 1973**. 2a. ed. Santiago, Chile, Editorial Andrés Bello, 1980.
17. Pellett, P. L. & V. Young. (Eds.). **Nutritional Evaluation of Protein Foods**. Tokyo, The United Nations University World Hunger Programme, 1980, 154 p. (Food and Nutrition Bulletin Supplement 4) (WHTR-3/UNP-129).
18. Mucciarelli, S. I. L. de, M. L. de Arellano, J. A. del Cid & M. S. Giménez. Harina de *Cassia aphylla*. Estudio de la composición química y calidad biológica de la proteína. *Arch. Latinoamer. Nutr.*, **31**(2): 324-336, 1981.
19. Sambucetti, M. E. Estudio de la proteína extraída de la semilla de lino. *Arch. Latinoamer. Nutr.*, **23**: 79-94, 1973.
20. Duncan, D. B. Multiple range and multiple F test. *Biometrics*, **11**(1): 1-42, 1955.
21. Schmidt-Hebbel H. & M. J. Penachioti. **Tabla de Composición Química de Alimentos Chilenos**. Santiago, Chile, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad de Chile, 1985.
22. Mella, M. A. & L. S. Masson. Materias grasas vegetales de consumo habitual y potencial en Chile. *Grasas y Aceites*, **35**: 240-245, 1984.

23. Pellet, P. L. Protein quality evaluation revisited. *Food Technol.*, **32**(5): 60-79, 1978.
24. Villaruel, M., E. Biolley, R. Schneeberger, D. Ballester & S. Ramírez. Amino acid composition of Chilean hazel nut flour. *Food Chem.*, **25**(2): 155-158, 1987.

NUEVOS LIBROS

Legumes – Chemistry, Technology, and Human Nutrition. – Ruth H. Matthews (Ed.). (Food Science and Technology Series/32). New York, N. Y., Marcel Dekker, Inc., 1989, 408 p. ISBN 0-8247-6 (pasta dura e ilustrado). Precio: US\$99.75 (EUA y Canadá); en los otros países, US\$119.50 (Precios sujetos a cambio sin aviso previo).

Las leguminosas representan un área extensa en alimentos para humanos y como forraje para animales. Conocidas por ser excelentes fuentes de proteína, las leguminosas también son ricas en importantes vitaminas y minerales. Hoy día, las leguminosas procesadas y los productos de leguminosas se encuentran ampliamente disponibles y se utilizan como ingredientes en muchos productos y mezclas alimenticias.

El libro que nos ocupa fue preparado con el propósito de proporcionar información exacta y amplia sobre la química y tecnología de la producción, procesamiento y propiedades de varias leguminosas y productos a base de ellas. Lógicamente, le sigue la nutrición humana porque los componentes de los productos son afectados por los tratamientos y procesos a que se someten los materiales crudos. (Por lo tanto, un capítulo se destina a comentar los forrajes para animales a base de leguminosas).

Cada tópico lo presenta en forma global una fuente autorizada y competente. Así, en los dos primeros capítulos del libro se abordan los aspectos culturales, de genética y de cosecha y almacenaje de las leguminosas. En los capítulos siguientes, se enfoca la química y tecnología de aceites refinados, aislados proteínicos, concentrados proteínicos y productos de fermentación.

El complejo tema de nutrición a base de leguminosas, se cubre en los capítulos destinados a composición de nutrientes, su biodisponibilidad y factores antinutricionales. Asimismo, se proporcionan datos sobre composición de nutrientes, los que comentan en el caso de alimentos tales como leguminosas cocidas y enlatadas, leguminosas germinadas y otros productos, incluyendo tofu, tampeh, miso y natto. También se cubren los forrajes para animales.

Si bien el libro está destinado principalmente a nutricionistas, tecnólogos en alimentos, científicos en ciencias de alimentos, y químicos, constituye un excelente texto de referencia para estudiantes en el campo de la nutrición y ciencia de alimentos.

Ajeno al prefacio y nómina de autores contribuyentes, incluye 10 capítulos principales, como sigue: 1. Cultivo y genética de las leguminosas de grano. 2. Cosecha y almacenamiento de leguminosas. 3. Aceites refinados. 4. Aislados proteínicos de soya. 5. Harina y concentrados proteínicos de leguminosas. 6. Productos fermentados. 7. Composición de nutrientes de leguminosas crudas, cocidas, enlatadas y germi-

nadas. 8. Contenido de nutrientes de otros productos de leguminosas. 9. Usos de leguminosas como forraje animal y finalmente, en el capítulo 10. Factores antinutricionales.

A los interesados en adquirir este volumen, se les sugiere dirigir su solicitud a: Marcel Dekker, Inc., 270 Madison Avenue, New York, N.Y. 10016, acompañándola de un cheque en dólares por la cantidad estipulada al rubro.

Lipoproteins and Atherosclerosis (Atherosclerosis Reviews, Volumen 17).

Robert I. Levy, Anatoli N. Klimov, Vladimir N. Smirnov y Herman A. Tyroler (Eds.). New York, N.Y., Raven Press, 1988, 335 p. ISBN 0-88167-402-8. (Pasta dura e ilustrado). Precio: US\$119.00.

La aterosclerosis constituye un grave problema en muchos países, como lo reflejan las altas tasas de enfermedad coronaria. En Estados Unidos y la URSS, por ejemplo, las enfermedades cardiovasculares constituyen, hoy día, la principal causa de muerte. Desde 1972 ambos países han unificado esfuerzos en el desarrollo de un programa cooperativo de investigación con el fin de encontrar soluciones a estos problemas de salud. Dicho programa explora cómo ciertas variables de población, de índole social, cultural, ambiental, dietaria y otras, se asocian con el desarrollo de aterosclerosis y enfermedad coronaria. Esa cooperación ha incluido extensos estudios epidemiológicos en ambos países así como investigación básica con tecnologías actualizadas en biología molecular, para elucidar el papel que los lípidos desempeñan en la aterosclerosis. Se ha encontrado que los niveles elevados de lipoproteínas correlacionan con la aterosclerosis prematura.

El volumen que nos ocupa presenta resultados importantes del programa en referencia. La primera parte informa sobre hallazgos de investigación básica reciente en lo que a las interacciones lipoproteína-aterosclerosis se refiere. Así, investigadores de ambos países han estado trabajando juntos, primero para definir la estructura, función y metabolismo de las diversas lipoproteínas y apolipoproteínas, y segundo, para tratar de entender el papel y las actividades de los receptores celulares. Se exponen datos de estudios experimentales y clínicos realizados, utilizando la aplicación clínica de técnicas tales como anticuerpos monoclonos y electroforesis de gel en gradiente. Estos estudios básicos se derivan de las manifestaciones de aterosclerosis en pacientes con enfermedad coronaria, y están dirigidos hacia el mejoramiento del estado clínico y, en última instancia, la prevención de la aterosclerosis prematura.

La segunda parte expone por vez primera, información epidemiológica extensa y comparativa concerniente a la enfermedad cardiovascular y factores de riesgo en muestras de población norteamericana y soviética. Esta Sección se inicia con una revisión general de la estrategia del muestreo, procedimientos de estudio, y métodos estadísticos. Los estudios fueron diseñados para describir la distribución de lípidos y lipoproteínas en plasma, estudiar sus determinantes, e identificar y cuantificar las secuelas cardiovasculares de los patrones de lípidos y lipoproteínas en ambos sectores de población (Estados Unidos y la Unión Soviética). Se proporcionan datos sobre los correlativos de la presión sanguínea y de los lípidos y lipoproteínas, y se examina y evalúa la ingesta de varios nutrientes y las anomalías electrocardiográficas en mujeres. Los datos en cuestión son para todos los grupos de edad com-

prendidos entre 20 y 69 años, tanto para hombres como para mujeres. Se examinan también resultados de un estudio de seguimiento sobre mortalidad, relacionado con factores de riesgo de enfermedad coronaria —actualmente en marcha— en hombres y mujeres norteamericanos y de la URSS. Esta segunda parte concluye con un resumen de hallazgos clave derivados de los estudios epidemiológicos, datos que son importantes para lograr una mejor comprensión de los mecanismos de la aterosclerosis y del rol que los lípidos y las lipoproteínas desempeñan en este proceso patogénico en humanos. Los resultados del estudio conjunto no sólo han servido ya de estímulo a estudios básicos adicionales, sino también han aportado nuevos conocimientos, contribuyendo en esta forma al desarrollo de programas preventivos con base en las poblaciones, en beneficio de los Estados Unidos y de la URSS.

En resumidas cuentas, la orientación de investigaciones futuras apunta hacia un mayor entendimiento del proceso aterosclerótico, mejor seguimiento de las poblaciones en riesgo, y la adopción de medidas tempranas y oportunas para prevenir el desarrollo de la enfermedad cardiovascular.

El libro —de especial interés para científicos, clínicos y epidemiólogos que laboran en el campo de las enfermedades cardiovasculares— también será de gran valor para aquéllos cuyo interés se centra en problemas internacionales de salud y el desarrollo de programas preventivos basados en la población.

Los interesados en adquirirlo podrán hacerlo directamente de la Raven Press, Inc., acompañando su solicitud de un cheque por la suma de US\$119.00 a la dirección que sigue: 1185 Avenue of the Americas, New York, N. Y., 10036.

El Desafío de la Epidemiología — Problemas y Lecturas Seleccionadas. — Carol Buck, Alvaro Llopis, Enrique Nájera y Milton Terris (Eds., Discusión y recopilación). Washington, D. C., Organización Panamericana de la Salud, 1988, 1077 p. (Publicación Científica 505) ISBN 92 75 31505-1. (Pasta suave). Publicada también en inglés (1988) con el título *The Challenge of Epidemiology; Issues and Selected Readings*, ISBN 92 75 11505-2.

Este volumen representa la culminación de un esfuerzo colaborativo en el que participaron dos unidades de la OPS, la de Análisis de la Situación de la Salud y sus Tendencias, y la de Desarrollo de Recursos Humanos de Salud. Como reza la introducción, el Dr. Clovis H. Tigre, epidemiólogo asignado a la primera de estas unidades, coordinó la producción del libro, y un grupo de editores integrado por cuatro eminentes epidemiólogos —Carol Buck, de la Universidad de Ontario Occidental, Canadá; Alvaro Llopis, de la Universidad Central de Venezuela; Enrique Nájera, de la Universidad de Sevilla, España, y Milton Terris, del *Journal of Public Health Policy*— seleccionaron artículos para la antología y tuvieron discusiones de fondo sobre cada parte de la misma. Estas discusiones, destinadas a proporcionar una estructura para los artículos, se grabaron y transcribieron las propias reuniones de los editores, y su estilo original se ha mantenido para conservar las opiniones de los editores y el espíritu de sus discusiones.

La primera reunión tuvo por propósito discutir los objetivos y procedimientos generales, y se acordó que los artículos para la antología se escogerían entre los sugeridos por expertos de todo el mundo. Se enviaron aproximadamente 100 cartas a profesionales del campo de la epidemiología, pidiéndoles que mencionaran hasta 10 trabajos que, a su juicio, representarían hitos en la evolución de la disciplina, contribuciones destacadas referentes a actividades sobre el terreno, o ejemplos del avance de un concepto innovador. Sobre la base de esta gran colección de artículos, capítulos de libros y resúmenes de artículos, los cuatro editores procederían a una minuciosa selección de la mayor parte del material en cuestión, a fin de lograr una versión final bien equilibrada. Los títulos restantes se integrarían en una extensa bibliografía sobre el tema del libro.

En una reunión posterior, los editores distribuyeron en cinco partes los artículos seleccionados. Las dos primeras tituladas "Desarrollo histórico" y "De la antigua a la nueva epidemiología" respectivamente, trazan la evolución histórica de la disciplina. La tercera, "Investigación etiológica", y la cuarta "Servicios de salud y política de salud", se refieren a la aplicación de la epidemiología. Las cuatro primeras partes contienen discusiones y una recopilación de reimpresos ordenados cronológicamente; la última sección contiene discusiones únicamente. La traducción de los artículos para esta edición en español estuvo a cargo del personal del Departamento de Medicina Preventiva y Social de la Facultad de Medicina, Universidad de Sevilla, España.

Se espera que, además de ofrecer valiosa información, esta antología estimule el debate sobre la historia y evolución, alcance y limitaciones y perspectivas de la epidemiología. Cumpliría así su misión de servir como un instrumento útil para los estudiantes y para los profesionales, ofreciéndoles, a la vez, un sistema de referencia, tan esencial para la reorientación de la práctica de la epidemiología en la Región.

Para mayores detalles, se ruega a los lectores dirigir su solicitud al Servicio Editorial, Organización Panamericana de la Salud, 525 Twenty-third Street, N. W., Washington, DC 20037, EUA.

Diagnóstico de la Situación Alimentaria, Nutricional y de Salud de la Población Ecuatoriana Menor de Cinco Años. — W. B. Freire, H. Dirren, J. O. Mora, P. Arenales, E. Granda, J. Breilh, A. Campaña, R. Paez, L. Darquea y E. Molina. Publicación del Consejo Nacional de Desarrollo y el Ministerio de Salud de Ecuador, 1988. xxxvii + 268 p. (Español).

Esta publicación presenta el diagnóstico de la situación nutricional de los niños ecuatorianos menores de cinco años. Con una muestra probabilística, de conglomerados, estratificada y bietápica, aporta información sobre la desnutrición crónica, aguda y global, a partir de la construcción de los indicadores de talla para edad, peso para talla y peso para edad. Con indicadores bioquímicos, define las deficiencias de hierro, expresadas en prevalencia de anemias, de riboflavina y la posible deficiencia de zinc. Además, incluye datos sobre el consumo de alimentos de los niños, expresada en términos de nutrientes.

Los resultados se presentan desagregados por rangos de edad y por regiones de Sierra y Costa, así como por población urbana y rural. Adicionalmente, los proporciones por estrato social, por nivel de instrucción de la madre, y por nivel de riesgo de la vivienda. Más adelante, el libro contiene análisis sucesivos, cruzando dos variables independientes con la variable dependiente, a partir de un modelo de asociación en el que se jerarquizan dichas variables de acuerdo al modelo que se construyó para la interpretación de los resultados, y a la primera parte del análisis.

De la interpretación de esos hallazgos, se concluye que en Ecuador, una proporción muy importante de niños padece de algún tipo de desnutrición, problema que se encuentra vinculado a diversos factores tales como la diferenciación regional, la condición de estrato social, las diferencias en el acceso a los servicios de salud, saneamiento ambiental y vivienda, y grado de instrucción de la madre. Se determina, asimismo, que el problema de la desnutrición energético-proteínica es más grave en los niños a partir del sexto mes de vida, hasta cumplir los 35 meses. Como sabemos, éste es el período en el que se introducen alimentos complementarios a la leche materna, y en el que aparecen también los problemas más frecuentes de diarrea y de enfermedades de las vías respiratorias.

También se determina la presencia de anemias por falta de hierro, siendo su mayor prevalencia en los niños de seis a 11 meses y de 12 a 23 meses. Con relación a la riboflavina, se observa prevalencias que van en aumento paralelo con la edad.

El estudio objeto de esta reseña, a más de actualizar la información del problema nutricional en el Ecuador, su distribución y características, pone a consideración nuevas metodologías para los siguientes propósitos: interpretación de los resultados antropométricos, uso de los indicadores de hierro (particularmente el de hemoglobina que cambia con la altitud), interpretación y definición de estrato social, y definición de criterios de riesgo en base a las características de la vivienda.

Los interesados en obtener un ejemplar de este estudio, pueden obtener mayores detalles solicitándolos a la Dra. Wilma B. Freire, Casilla 537-C, Quito, Ecuador.

NOTAS

ENERGY INNOVATION AND THE AGRO-FOOD INDUSTRY Amiens, France, March 21-23 1990

La Comisión de Comunidades Europeas y la Agencia Francesa para la Administración de Energía, en colaboración con la Asociación para la Promoción de la Industria Agrícola (APRIA), están organizando un Coloquio Internacional sobre el tema "Innovación Energética y las Industrias Agro-Alimentarias".

El evento a que aludimos, a celebrarse en Amiens en las fechas indicadas, reunirá a personal directivo, investigadores y técnicos responsables en el campo agro-alimentario, con los objetivos siguientes:

- Evaluar las mejoras potenciales en la eficiencia de energía y eficiencia económica mediante la experiencia y conocimientos especializados en nuevos procesos.
- Facilitar la diseminación y transferencia de tecnologías de alto rendimiento.
- Anticipar el impacto de las tecnologías del mañana.
- Ofrecer a profesionales en energía una oportunidad de reunirse para intercambio de puntos de vista.

El Comité Organizador vería con agrado que profesionales e investigadores en el campo agro-alimentario proporcionaran trabajos o posters sobre los temas: secamiento, concentración y deshidratación.

Se suplica a los contribuyentes proporcionar ejemplos de tecnología y sistemas innovativos (basados en el triple criterio de energía, tecnología y economía).

Un Comité Científico, compuesto de especialistas europeos, dará su preferencia a comunicaciones que enfoquen los resultados energéticos y financieros, recientes avances, calidad, automatización y protección ambiental.

Se ruega a todas las personas que deseen participar, envíen sus contribuciones a Monsieur Christian FABRY, Agence Francaise pour la Maîtrise de l'Energie, Délégation Régionale de PICARDIE, 2, rue Delpech — 80000 AMIENS (FRANCE).

LA ASOCIACION DE NUTRICIONISTAS DE GUATEMALA
(ANDEGUAT)

Se complace en invitar a los profesionales vinculados al campo de la alimentación y nutrición, al

XII CONGRESO DE NUTRICION DE CENTROAMERICA Y PANAMA.
IV CONGRESO NACIONAL DE NUTRICION

con el tema

“NUTRICION AL DIA”

y a la

NUTRIEXPO '90

Que se llevarán a cabo en la ciudad de Guatemala, en el Hotel “El Dorado”, Salón De Las Naciones, del 11 al 15 de junio de 1990.

Objetivos

1. Intercambiar experiencias y conocimientos en el campo de la alimentación y nutrición entre los profesionales de estas áreas.
2. Establecer mecanismos de intercambio de información entre los profesionales e instituciones que trabajan en el área de alimentación y nutrición.

Areas Temáticas

Considerando que el campo de la alimentación y nutrición es muy amplio y para cubrir las expectativas de actualización e intercambio de los participantes en este Congreso, se han planteado ocho áreas temáticas:

- Antropometría
- Alimentación Institucional
- Ciencia y Tecnología de Alimentos
- Educación Alimentario-Nutricional
- Formación de Recursos Humanos en Alimentación y Nutrición
- Nutrición Clínica
- Nutrición y Deporte
- Vigilancia Alimentario-Nutricional

Dentro de cada una de estas áreas de incluye el componente de investigación.

Para mayor información diríjase a: Comité Organizador XII Congreso de Nutrición de Centroamérica y Panamá. Apdo. Postal 956 - Tel. 23888 - Telex: 5392 EMSELGU - Fax: 343987. Guatemala, C. A.

INFORMACION 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 nuestras 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 diversas contribuciones deben ser originales, a máquina, a doble espacio y en triplicado.
2. Los trabajos serán remitidos al Editor General 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 del Editor General, ocupen desproporcionado espacio.

C. ORGANIZACION DEL MANUSCRITO

Se recomienda organizar cada manuscrito como sigue:

1. *Título*

La primera página del manuscrito debe contener el título completo del trabajo en

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

2. *Resumen en el idioma original del artículo*

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

3. *Introducción*

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

4. *Material y Métodos*

La descripción de los materiales debe hacerse en forma concisa. Cuando las técnicas o procedimientos utilizados hayan sido publicados, deberán mencionarse, e incluir sólo los detalles de técnica que representan modificaciones substanciales del procedimiento original. Cuando se utilicen términos locales o regionalismos, éstos deberán ser aclarados mediante su denominación científica o de 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 original. 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 o/o sino, por ej. g/100 g 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 gráficas.

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 DISCUSION. Lo expresado en los incisos a) a 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, francés o portugués. Si el trabajo es en inglés, este resumen debe presentarse en español. El título del trabajo también debe redactarse en inglés.

8. *Agradecimiento* (si lo hubiere)

9. *Citas bibliográficas y Bibliografía*

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 *Bibliografía*, al final del trabajo, aplican las mismas normas y serán presentadas de acuerdo a los siguientes ejemplos:

a) De revistas:

Liendo Coll, P. & J. M. 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:

Asociacion of Official Agriculturas Chemist. *Official Methods of Analysis of the AOAC*. 12th ed. Washington, D. C., The Association, 1975, p. 30

d) De un artículo o capítulo de un autor (es) consignado en un libro publicado por casa editora:

Hoskins, W. G. & M. Charles. Macaroni production. En: *The Chemistry and Technology of Cereals as Food and Feed*. S. A. Matz (Ed.). Westport, Conn., The Avi Publishing Co., 1959, p. 274-320.

e) De citas de compendios:

Krebs, H.A. & 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 pagina 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. Abreviaturas 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 las del idioma original del artículo, por ej., DNA, RNA, PER, etc. Todas las abreviaciones y siglas se usan sin punto, g, b, m, etc.

12. Nomenclaturas

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

13. Resultados numéricos

Al consignar números se usará el punto (.) para indicar decimales, p. ej. 35.7; 389.9, y la coma (,) 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 la 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 expresa dirigida en ese sentido por el autor (es).

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. La actual Junta Directiva de la SLAN está constituida por los siguientes miembros:

Dr. Jaime Ariza – *Presidente*
Dr. Eleazar Lara Pantín – *Vicepresidente*
Prof. Hilda Díaz – *Secretaria*
Lic. María de los Angeles Díaz – *Tesorera*
Dr. Sergio Valiente – *Presidente saliente*
Lic. María Teresa Menchú – *Vocal*
Dr. José María Bengoa – *Vocal*
Dr. Helio Vannucchi – *Vocal*
Dr. José Maguiña – *Presidente Capítulo Argentino*
(Consejo Directivo 1989–1991)

Dirección actual hasta el 31 de diciembre de 1991:

Facultad de Ciencias Biosociales y Escuela Graduada de Salud Pública
Universidad de Puerto Rico
Recinto de Ciencias Médicas
G.P.O. Box 2156
San Juan, Puerto Rico 00936

DIRECTORIO DE ARCHIVOS LATINOAMERICANOS DE NUTRICION

Integrado por miembros de la Sociedad Latinoamericana de Nutrición
Editor General: Dr. Ricardo Bressani
Jefe, Oficina Editorial y de Publicación: Sra. Amalía G. de Ramírez
Encargada de Asuntos Administrativos: Sra. Claudia de Grüner

MIEMBROS DEL CUERPO EDITORIAL – PERIODO 1989–1991

Dr. Héctor Araya	Lic. Luis García
Dra. Julia Araya	Lic. Carolina de Godínez
Dr. Antonio Bacigalupo	Dr. Werner G. Jaffé
Lic. Adriana Blanco	Dr. Franco M. Lajolo
Dr. José Belizán	Dr. Alfredo Lam-Sánchez
Lic. Concha M. de Bosque	Dr. Reynaldo Martorell
Dr. Héctor Bourges	Dr. Leonardo Mata
Dr. Ricardo Bressani	Dr. Luis A. Mejía
Dr. Adolfo Chávez	Dra. Josefina Morales
Dr. José Félix Chávez	Dra. Nelly Pak
Dra. Rebeca Carlota De Angelis	Dra. Martha Pabón de Rozo
Dr. Hernán Delgado	Dr. Nelson de Souza
Dr. J. E. Dutra de Oliveira	Dr. Sergio Valiente
Dr. Luiz G. Elías	Dr. Emilio Vargas
Ing. Arnoldo García	Dr. Enrique Yáñez

ARCHIVOS LATINOAMERICANOS DE NUTRICION

CONTENIDO

	Página
EDITORIAL	125
TRABAJOS DE INVESTIGACION	
NUTRICION HUMANA	
Consumo de leguminosas en preescolares: Efecto de la densidad energética y tipo de preparación. — <i>Marcela Alviña, Gloria Vera y Héctor Araya</i>	129
NUTRICION EXPERIMENTAL	
Desarrollo y evaluación química y nutricional de un alimento infantil a base de lupino dulce, trigo y leche. — <i>Ricardo Catricheo, Fernando Sánchez, Marcela Aguayo, Digna Ballester y Enrique Yáñez</i>	141
CIENCIAS DE ALIMENTOS	
Proteínas de lupino dulce (<i>Lupinus luteus</i> , var. Aurea/Weico, y <i>Lupinus albus</i> , var. Multolupa). I. Extracción y filtración por Sephadex. — <i>Magaly Vásquez, Enrique Knapp, Ernesto Guzmán e Isabel Zacarías</i>	150
Proteínas de lupino dulce (<i>Lupinus luteus</i> , var. Aurea/Weico, y <i>Lupinus albus</i> , var. Multolupa). II. Separación por electroforesis. — <i>Isabel Zacarías, Enrique Knapp, Ernesto Guzmán y Magaly Vásquez</i>	159
Aislamiento y caracterización parcial de la enzima fenoloxidasa de manzana (<i>Malus domestica</i> , var. Anna). — <i>Herlinda Soto-Valdéz y Augusto Trejo-González</i>	171
TECNOLOGIA DE ALIMENTOS	
Enlatado de "humitas" preparadas con maíz opaco-2 complementado con lupino dulce (<i>Lupinus albus</i> , var. Multolupa). Cambios nutricionales y de calidad. — <i>Lavinia Camacho, Eduardo Bañados y Evelyn Fernández</i>	185
LATINFOODS — COMPOSICION DE ALIMENTOS	
Composición química y calidad biológica de harina desgrasada de avellana. — <i>Mario Villarroel T., Edith Biolley H., Ricardo Schneeberger K., Digna Ballester C. y Sergio Santibáñez R.</i>	200
NUEVOS LIBROS.	213
NOTAS.	219
INFORMACION PARA LOS AUTORES.	221