

ARCHIVOS
LATINOAMERICANOS
DE
NUTRICION



CONTINUACION DE
ARCHIVOS VENEZOLANOS DE NUTRICION



ORGANO OFICIAL DE LA SOCIEDAD
LATINOAMERICANA DE NUTRICION

VOL. XXXIII

JUNIO, 1983

No. 2

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*).

El precio de la suscripción es de US\$ 40.00 (4 números), incluyendo gastos de correo.

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*).

The subscription is US\$ 40.00 per yearly volume (4 issues), including mailing costs.

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. XXXIII

JUNIO 1983

No. 2

CONTENIDO

	Pág.
EDITORIAL	241
ARTICULOS GENERALES	
The potential value of cultured dairy products for child nutrition. — <i>Ernst J. Siegenthaler</i>	247
Procedimientos básicos en el registro y proceso de datos. — <i>Miguel A. Guzmán, Ricardo Sibrián y Rafael Flores</i>	257
TRABAJOS DE INVESTIGACION	
NUTRICION EXPERIMENTAL	
Corn amino acid imbalance and the role of leucine excess. — <i>Rebeca C. de Angelis and I. C. M. Terra</i>	271
Growth, development and dental caries in rats fed two experimental diets. — <i>Jorge L. Sintes and Sanford A. Miller</i>	283
Influence of supplementation on the dental caries incidence and growth of rats fed two model diets. — <i>Jorge L. Sintes and Sanford A. Miller</i>	308
Influence of dietary iron on the dental caries incidence and growth of rats fed an experimental diet. — <i>Jorge L. Sintes and Sanford A. Miller</i>	322
CIENCIAS DE ALIMENTOS	
Efecto de la época de cosecha sobre la composición de cotiledones crudos y fermentados de dos variedades de cacao y fracciones de cascarilla. — <i>Juan de Dios Alvarado, Fernando E. Villacís y Gino F. Zamora</i>	339

Composición química, contenido de aminoácidos y valor nutritivo de la proteína de semilla de achiote (<i>Bixa orellana</i>, L.). — Ricardo Bressani, Florida Alma Porta-España de Barnéon, J. Edgar Braham, Luiz G. Elías y Roberto Gómez-Brenes	356
NUTRICION HUMANA	
Breast milk consumption in rural Costa Rica. — Rachel Novotny and Leonardo J. Mata	377
Globulina ligante de hormonas sexuales en púerperas y sus recién nacidos con desnutrición intrauterina. — Santiago Muzzo, Abraham Zvaighaft y Patricio Cañas	387
Desnutrición infantil: costo social por patología respiratoria y digestiva. — Eduardo Atalah S., Patricia Bustos M. y Elena Gómez A.	395
Nutritional status of the elderly in Palmares, Costa Rica. — Diane V. Havlir, Sandra Murillo, Eduardo Robles, Alfonso Trejos and Leonardo Mata	409
EDUCACION NUTRICIONAL	
Un estudio descriptivo de 43 programas de educación nutricional en Venezuela. — Paulina L. Dehollain, Irene Pérez Schael y Leila Sfeir	423
BIBLIOGRAFIA LATINOAMERICANA	445
NUEVOS LIBROS	451
OTRAS PUBLICACIONES	455
NOTAS	457
CONTENIDO DE LA REVISTA TURRIALBA, Volumen 32, No. 2, 1982.	461
CONTENIDO DE LA REVISTA INTERCIENCIA, Volumen 7, No. 6, 1982	463
INFORMACION PARA LOS AUTORES	471

ARCHIVOS LATINOAMERICANOS DE NUTRICION

ORGANO OFICIAL DE LA
SOCIEDAD LATINOAMERICANA DE NUTRICION

VOL. XXXIII

JUNE, 1983

No. 2

CONTENTS

	Page
EDITORIAL	241
GENERAL ARTICLES	
The potential value of cultured dairy products for child nutrition. — <i>Ernest J. Stegenthaler</i>	247
Basic procedures in the data recording and processing. — <i>Miguel A. Guzmán, Ricardo Sibrián and Rafael Flores</i>	257
RESEARCH PAPERS	
EXPERIMENTAL NUTRITION	
Corn amino acid imbalance and the role of leucine excess. — <i>Rebeca C. de Angelis and I. C. M. Terra</i>	271
Growth, development and dental caries in rats fed two experimental diets. — <i>Jorge L. Sintés and Sanford A. Miller</i> ,	283
Influence of supplementation on the dental caries incidence and growth of rats fed two model diets. — <i>Jorge L. Sintés and Sanford A. Miller</i>	308
Influence of dietary iron on the dental caries incidence and growth of rats fed an experimental diet. — <i>Jorge L. Sintés and Sanford A. Miller</i>	322
FOOD SCIENCE	
Effect of the harvest season on the composition of raw and ferment- ed cotyledons of two varieties of cacao and shell fractions. — <i>Juan de Dios Alvarado, Fernando E. Villacís and Gino F. Zamora</i>	339

Chemical composition, amino acid content and nutritive value of the protein of annatto seed (<i>Bixa orellana</i> , L.). — Ricardo Bressani, Floridairma Porta-España de Barneón, J. Edgar Braham, Luiz G. Elías and Roberto Gómez-Brenes	356
HUMAN NUTRITION	
Breast milk consumption in rural Costa Rica. — Rachel Novotny and Leonardo J. Mata	377
Sex hormone binding globulin in mothers and their intrauterine malnourished newborns. — Santiago Muzzo, Abraham Zvaighaft and Patricio Cañas	387
Protein-energy malnutrition: social cost for diarrhea and respiratory pathology. — Eduardo Atalah S., Patricia Bustos M. and Elena Gómez A.	395
Nutritional status of the elderly in Palmares, Costa Rica. — Diane V. Haulir, Sandra Murillo, Eduardo Robles, Alfonso Trejos and Leonardo Mata	409
NUTRITION EDUCATION	
A descriptive study of 43 nutrition education programs in Venezuela. — Paulina L. Dehollain, Irene Pérez Schael and Leila Sfeir.	423
LATIN AMERICAN BIBLIOGRAPHY	445
NEW BOOKS	451
OTHER PUBLICATIONS	455
NOTES	457
CONTENTS OF THE JOURNAL TURRIALBA, Volume 32, No. 2, 1982.	461
CONTENTS OF THE JOURNAL INTERCIENCIA, Volume 7, No. 6, 1982	463
INSTRUCTIONS TO AUTHORS	471

EDITORIAL

LA SITUACION ECONOMICA DE ARCHIVOS LATINOAMERICANOS DE NUTRICION

Desempeñar el cargo de Editor de una revista científica es, indudablemente, una valiosa experiencia que involucra logros positivos a veces, y otras, un tanto desalentadores. Entre los aspectos positivos puede citarse la halagadora respuesta de los autores de artículos científicos que se publican en la Revista y que cada día, cada año, son más numerosos y de calidad técnica de continua superación. Asimismo, cabe mencionar la respuesta incondicional que los científicos a quienes se les confía la responsabilidad de examinar los artículos que les son sometidos a consideración para publicar en Archivos Latinoamericanos de Nutrición. Tan importante como los aspectos mencionados es también el entusiasmo y dedicación a sus labores diarias del pequeño grupo de personas que conforma la Oficina Editorial de ALAN. Obviamente, el objetivo único que guía todas estas actividades es tratar de que cada número que se imprime sea mejor en determinado renglón que el que le precedió. En síntesis, la meta de todos, y en particular del Editor, es hacer que la Revista ocupe el sitio que en lo referente a material informativo, de consulta y divulgación, merece el científico latinoamericano.

Pero no sólo existen aspectos positivos, ya que toda moneda tiene dos caras. La otra en nuestro caso, son experiencias de preocupación e incertidumbre, las cuales se suscitan principalmente en la fase contable o económica, de hecho imprescindible en el rubro

de publicaciones. Son pocas las veces que nos detenemos a pensar que este proceso en su totalidad implica un costo, un costo ciertamente no sentimental ni factible de eludir viendo sólo la calidad científica de las contribuciones técnicas, o los objetivos de ALAN que concretamente, son dar a conocer lo que en materia de nutrición, alimentos y —dada la naturaleza polifacética de esos problemas nutricionales— las investigaciones que, en lo que a disciplinas afines se refiere, se están realizando en América Latina. El costo es un factor inflexible, y al no tener la capacidad de enfrentarlo y superarlo, incide en forma tal que puede hasta destruir todo un ideal que, de una forma u otra, ha sido nuestra concepción de ALAN.

Brevemente, y enfocando con realismo la situación económica de la Revista, esa situación debe calificarse de pobre. Tengo la seguridad de que todos nos damos cabal cuenta del costo de publicación de una revista. Su manejo requiere del mantenimiento de una Oficina Editorial y, en el caso específico de Archivos, esta Oficina la integran dos personas que trabajan a medio tiempo. En sí, la Oficina incurre en gastos propios de su manejo, ya que implica una correspondencia activa relacionada con el procesamiento de artículos; atención de reclamos; elaboración de etiquetas; adquisición de implementos como papel, lápices, sobres, cintas para máquinas de escribir y mil más que sería prolijo enumerar. La Oficina misma tiene un costo que —si no contara con el espacio y facilidades donadas por el INCAP— hace tiempo que habría dejado de funcionar. Luego, hay que considerar los costos de impresión que cada vez son mayores; los costos de correo que implica el envío de la Revista, y otros pequeños desembolsos. Entre estos últimos podríamos mencionar el hecho de que muchas Bibliotecas, por ejemplo, estiman que la Revista les es imprescindible, por lo que se les proporciona gratuitamente o bien a título de canje, lo que también implica un gasto.

Pero también es posible que hayamos pensado cómo se cubren estos costos. La respuesta es simple, ya que tres son las fuentes principales de ingreso con que se cuenta para ello: los fondos parciales percibidos por cuotas de los miembros de la Sociedad Latinoamericana de Nutrición (SLAN); los obtenidos por medio de suscripciones, y los otorgados por agencias o instituciones donantes. Sin embargo, la verdad es que la situación actual que estamos viviendo se debe a que no percibimos esa proporción que corresponde a la Revista de las cuotas de miembros de SLAN,

sencillamente porque la Sociedad no recibe los pagos correspondientes. Ajeno a ello, hay subscriptores que también se retiran, y las agencias donantes, por su parte, no contribuyen alegando la situación económica prevalente que no les permite continuar apoyando algo que, en realidad, quizás nunca les interesó del todo. En otros casos, justo es decirlo, instituciones que antes contribuían ya no pueden hacerlo realmente por razones de índole económica, o por motivos de otra naturaleza.

Si creemos en ALAN, si deseamos ser considerados de alguna importancia en el mundo de la nutrición y de los alimentos, si en verdad deseamos crear y desarrollar recursos humanos competentes y respetados, si nuestro interés es compartir experiencias y estrechar los lazos que fraternalmente nos unen, estimo que todos tenemos la obligación moral y científica de ayudar a que ALAN continúe publicándose y logre la deseada superación.

Ello no significa que para lograrlo sea necesario recurrir, por el momento, a fijar una contribución económica mayor de la actual. Tan sólo se necesita, en primer lugar, contribuir con la cuota establecida al convertirse en miembro de la Sociedad. Si cada uno de nosotros, sus miembros, pudiésemos vender una suscripción; si cada uno de nosotros cubriéramos al menos el 50% del costo por página que entraña la publicación de un artículo; si cada uno de nosotros lográsemos interesar a una agencia donante, estoy seguro que todo ello se traduciría en un aumento sustancial que que permitiría a la Oficina Editorial cubrir las deudas pendientes y mejorar constantemente la Revista, a modo de proporcionar a los interesados un servicio amplio, efectivo y regular. ¿Por qué no tratamos de hacerlo?

En lo que a nosotros concierne, muchos son los intentos que hemos hecho en búsqueda de lograr la solvencia necesaria. Esos esfuerzos a veces han tenido éxito, pero en muchas ocasiones han fracasado. Pero estamos dispuestos a continuar intentándolo.

Quiero aprovechar la oportunidad para hacer un llamado urgente a todos los colegas y amigos de ALAN, para que esa unión de fuerzas nos permita resolver a la brevedad posible, la precaria

situación económica por la que atraviesa la Revista. Sus acciones y sugerencias en este sentido, así como sus contribuciones técnico-científicas como siempre, son y serán más que bienvenidas.

*Ricardo Bressani
Editor General*

ARTICULOS GENERALES

THE POTENTIAL VALUE OF CULTURED DAIRY PRODUCTS FOR CHILD NUTRITION

Ernst J. Siegenthaler

The University of Michigan, Ann Arbor, Michigan, USA

SUMMARY

The author suggests that under certain conditions cultured milk, rather than fluid milk, can be used for infant and child nutrition as well as for school milk programs. Some of the major problems with fluid milk, fresh or reconstituted, are discussed. A review of the literature indicates that the assumption of lactose intolerance among many populations is exaggerated. Inappropriate handling of pasteurized milk very often is responsible for a high bacterial count and organoleptic defects. Such quality defects are more pronounced in countries with a warm climate. The use of polluted water in the reconstitution of milk powder, is probably more often responsible for diarrhea than lactose intolerance.

For these reasons it is suggested that under appropriate conditions a cultured milk product such as yogurt or quark, be used for infant and child nutrition. The advantages are: 1) the low pH caused by the high lactic acid content detrimentally affects food spoilage and pathogenic organisms in milk; 2) longer shelf life of the fermented product at ambient temperature; and 3) fermented milk products contain the enzyme lactase which facilitates digestion of residual lactose even after ingestion.

¹ Human Nutrition Program, School of Public Health, University of Michigan, M5170 Thomas Francis, Jr., Public Health Bldg., 1420 Washington Heights, Ann Arbor, Michigan 48109, USA.

INTRODUCTION

In considering milk as a component of children's diet, it is only appropriate to say a few words about breast-feeding, infant formulas and animal milk. "Milk plays such a dominant part in present-day infant feeding in Europe and North America, that it is difficult for anyone brought up in those parts of the world to realize that it is not a necessary foodstuff for any age group... Despite the danger of an excessively emotional attitude towards the use of animal milk in infant feeding, it must be clearly stated that it is, of course, an excellent source of protein of good biological value and is probably the best protein weaning food" (2). Kon (3) further states that local milk preparations (fermented milks) also can be usefully employed in infant feeding.

On the other hand, the importance and advantages of breast-feeding recently have received an increased emphasis. "Human milk is the natural food for the infant... In lower economic groups, breast-fed infants have a consistently lower mortality rate, probably because there is no problem of sanitation. As a rule, there are fewer and less serious illnesses and feeding problems among breast-fed infants; constipation also occurs less frequently. On a practical basis, breast-feeding eliminates preparation of a feeding; the milk is available at proper temperature; and errors in calculation and in formula preparation are avoided" (7).

If the mother, however, for whatever reason (lack of milk, illness, other pregnancy, etc.), is unable to provide the newborn baby with enough nutrients, then alternative sources of food are indispensable. In this case, an infant formula is an appropriate substitute. Nevertheless, it should be pointed out that with all our scientific and technical knowledge, it is probably not possible to manufacture a formula equal in quality to human milk, especially as regards to its immunological properties. And the better the product, the further it is economically beyond the reach of the majority of people in the Third World groups of low socioeconomic status. Moreover, the marketing and advertising of mother-milk substitutes by multi-national corporations has caused great concern in the international nutrition communities.

Delegates from about 150 nations met in Geneva, in May 1981, to discuss guidelines on infant formulas. The conference was called because of complaints from various groups that breast-feeding in poverty stricken areas is being deterred by the selling of infant formulas with allegedly aggressive and misleading promo-

tional tactics. It is beyond the scope of this paper to discuss nutritional, legal, and ethical ramifications of formulas, but it seems only logical and natural not to impose a formula on any mother who is able to breastfeed her baby. It makes much more sense to use the limited financial resources to improve the nutritional status of the lactating woman so she can do what is most natural. (As a matter of interest, it might be pointed out that Papua, New Guinea, began to control the sale of infant formulas by passing legislation which requires a prescription from a pediatrician to buy either nipples or baby bottles.) After weaning and up to the first year in school, properly prepared milk and milk products supply balanced and valuable nutrients.

The fact that most Third World countries are in tropical and sub-tropical climatic zones contributes to problems which are not easily solved. The high ambient temperature is only one of the aggravating factors. Others are the hygienic conditions in production and handling methods. All these points must be considered in recommendations for an increased use of milk.

PROBLEMS WITH MILK

Lactose Intolerance

In food supplementation programs to Third World countries, objections are often raised to milk and milk-containing foods because some sources report a high incidence of lactose intolerance, particularly in non-Caucasian ethnic groups. This is a very complex problem, but investigators generally agree on one aspect. If children do not receive milk after weaning, they gradually lose the capability to produce lactase, the enzyme which hydrolyzes lactose (the carbohydrate of milk) into glucose and galactose. If, at a later stage, they are again fed milk, an excessive amount of unhydrolyzed lactose reaches the lower intestinal tract. Here the lactose is used as a nutrient by the colon bacteria, producing carbon dioxide, which in turn leads to flatulence, eructations, abdominal pain and diarrhea. These signs and symptoms may increase as a child grows older.

A review paper by Torun, *et al.* (11) summarizes the problems. These authors base their conclusion on their own clinical experience at the Institute of Nutrition of Central America and Panama (INCAP), and on their review of 195 research papers on the subject. The review paper shows that the high proportion of lactose intolerance reported in very different societies is partly due

to the fact that most researchers have used aqueous solutions of lactose in their experiments, and few studies have been reported which actually used milk. The test dose of lactose should be mixed with other nutrients, particularly protein and fat, both of which are found in milk. The pertinent conclusions are: "The poor correlation between lactose malabsorption and intolerance to the amount of milk ordinarily ingested in a meal, indicates that the assumption of milk intolerance among many populations is exaggerated. ...Milk-fed children from population groups with a high prevalence of lactose malabsorption grow well or better than their non-milk consuming counter parts. ...The use of cow's milk should not be discouraged in the treatment of malnourished children unless cheaper, practical sources of high-quality protein are available. When the recipients are undernourished children, other foods must accompany the milk or other ingredients must be added to it. ...Many malnourished children regain their ability to tolerate lactose with protein re-feeding."

Handling of Pasteurized Milk

Too many consumers still do not realize that pasteurized milk is not sterile and some of the microorganisms in this milk can grow even at refrigerator temperature. This is the reason that there are problems with the shelf life of pasteurized milk, even in highly developed countries in the temperate and cool zones where they have a closed cooling chain, from the producer to the consumer, including home refrigerators for the latter. Published research (9) has shown that the storage life of pasteurized milk kept at a temperature not higher than 2°C remains generally good for ten days or even longer. If the same milk is kept at an only slightly higher temperature, 6°C, it is spoiled due to the growth of microorganisms which may reach millions per milliliter. In warm climates it is virtually impossible to prevent milk from warming up close to ambient temperature.

A few years ago, the quality of school milk in the State of New York was judged (12). Of 693 samples, 80% or 554, showed flavor and taste defects due to lack of proper refrigeration. Other investigators (5) confirmed similar conditions in other parts of the country. If a country with relatively strict and enforced food legislation has such problems with pasteurized milk, is it not to be expected that under semi-tropical and tropical conditions the situation with pasteurized milk must be worse? For this reason the

trend is towards ultra-high temperature treatment (sterilization) of the milk so that it need not be kept under refrigeration. Obviously this milk is more expensive, but in warm climates it is the only solution for marketing a fluid milk with a satisfactory shelf life under the given conditions.

Reconstitution of Milk Powder

One of the most difficult problems in the handling of food in many Third World countries is the quality of the water. Clean well water is a rarity. Rain water collected from the roofs is normally contaminated with bird droppings, and in surface water there are additional sources of contamination. (On an assignment in a tropical country we visited a number of villages in the same river valley to observe the reconstitution of milk in schools. In all of them we were informed by the local teachers, "No milk for the children today; the river is too dirty.") People have been using contaminated water as a matter of course; the older people have built up a resistance, and its effects on the younger people are partially responsible for the high child morbidity and mortality rates.

Reconstituted milk is not only an excellent source of nutrients for humans but also for microorganisms, and the ambient temperature in warm climates is usually that of an incubator. A time lapse of a few hours leads to such an increase of the microflora that the milk is intolerable even to those who are used to drinking the contaminated water. Hard-to-clean vessels of various materials, shapes and sizes, generally without lids, together with the lack of knowledge of the most elementary hygienic principles are further contributing factors to the problem. All this is probably more often responsible for diarrhea after consumption of reconstituted milk than lactose intolerance.

FERMENTED MILK: A POSSIBLE SOLUTION TO THE PROBLEMS

During the first months of the infant's life, human milk is the best source of nourishment. When the energy needs of the baby begin to exceed those which can be provided by breast-feeding, an alternate source of food is required. This is more easily recommended than carried out among low income groups of the Third World. Jelliffe (2) discusses these problems in a WHO monograph.

Fermented milks have several advantages over either pasteur-

ized fresh milk or reconstituted milk, both of which have problems that were discussed earlier. First, fermented milk is particularly valuable nutritionally because it not only is made from one of the most complete foods known, but in addition, it contains a variety of metabolites which are more easily digestible than the original milk constituents (1). Moreover, it has been estimated (4) that microorganisms constitute about one per cent of the cell mass of yogurt, and this bacterial protein is a rich source of essential amino acids.

Second, during the lactic acid fermentation, 30 to 50% of the lactose in the milk is hydrolyzed into glucose and galactose (in certain cheese it is 100%). Lactase, the enzyme which is synthesized by the living lactobacilli, is responsible for this breakdown of milk sugar. Since enzymes, after the alteration of their specific substrate, return to their original condition, they are free to catalyze still further chemical changes. After ingestion of the fermented product, the hydrolyzation process of lactose continues in the intestinal tract. This explains why many lactose sensitive people can tolerate sour milk products without detrimental after-effects, but cannot tolerate fresh milk.

Third, the shelf life of fermented milk is much longer than that of fresh milk. Extended storage at an elevated temperature leads to more acid production and finally to contraction of the gel and wheying-off (separation of liquid). The product is perfectly edible but it has lost some of its consumer appeal. In fact, the separation is easily taken care of by stirring the product. The other point to mention here concerns pathogenic microorganisms in cultured milks. From Speck's review paper (10), we can conclude that in the fermentation process, besides lactic acid, there are a number of bacterial antibiotics and inhibitors produced (nisin, diplococcin, acidophilin, lactocidin, lactolin, etc.), and they have a detrimental effect on pathogens. Indeed, the great majority of the pathogens are eliminated. While some do survive, a *raw* milk is safer after fermentation, even if there is no guarantee of complete elimination of pathogens. To accomplish complete elimination, commercially cultured milk products are always made from heated milk. This is a factor to be considered in any dairy development project, particularly when such fermented products are used in child nutrition or school milk programs.

Products to be Considered

What kind of fermented milk products could fill a need in

child nutrition and school milk programs? What are the options? Almost every country where animals are kept for milk production has its own specific fermented milk. It is amazing how many cultured milk products originated, most of them accidentally, in the course of the centuries. A few examples of fermented milks with practically the same moisture content as milk are: Yogurt (Bulgaria), Mazun (Armenia), Kefir (Turkey), Kumys (Russia), Dahi (India), and Leben (Middle East). White cheeses, with a relatively high moisture content are equally widespread: Chhena in India, Jibbneh among the Bedouins, Feta in the Balkans, Mascarpone, Petit Suisse, Neufchatel, and Quark mainly in European countries, and close to a dozen varieties of Queso blanco in Latin America. All of them have in common that lactobacilli, originally in the milk or added, play the dominant role. They are easy to produce under household conditions, are low in cost, have significant nutritional value and an acceptable taste. Some of these products can be kept at ambient temperatures for days or even weeks. While numerous local varieties could be recommended, the discussion in this paper is limited, for simplicity, to only two products: Yogurt and Quark.

Yogurt. Old fashioned yogurt, widely used all over the world, meets most of the requirements and is perfectly suitable for infant nutrition. For Latin America, it is interesting to note that one of the first industrial production of yogurt was undertaken by a Spaniard, Danone, in Madrid in 1922 (6).

To make yogurt more palatable and to introduce variety, all kinds of fruits, jams, jellies and syrups can be mixed into it. With respect to sweetening the yogurt, however, a word of caution is appropriate. Not only children, but many adults as well, like sweet foods. This has sometimes resulted in the addition of so much sugar to yogurt-type products that they are more closely related to "junk food", than to the nutritionally beneficial and valuable cultured milks. Experience has shown that children who receive unsweetened yogurt at a very early age, like it and eat it unsweetened at a later age, while others, already accustomed to sugar, refuse it. Many sour milks containing fruit do taste better with some sugar, but one should not begin the sugar habit at the infant age.

Quark. Quark is a fresh, white, high-moisture cheese. It is made from skim milk, whole milk or even milk to which cream has been added. Coagulation of the milk is induced with a lactic acid starter and a little rennet. After the lapse of a few hours, the curd

is carefully broken up with a fork-like instrument or often by hand, slightly heated and then placed in cloth bags for draining until the desired moisture content is achieved. This takes 8 to 12 hours. To speed up whey separation, pressure is sometimes applied. Quark does not show the popcorn-like curd particles of the American type cottage cheese; quark curd is emulsified. Contrary to commercial cheeses of this type, quark does not contain stabilizers, which, in turn, results in some water leakage during storage. After draining, the cheese is ready for consumption with or without the addition of salt. Detailed information on its manufacture is presented by Wuethrich (13). The same brochure also discusses the preparation of yogurt. Quark can be flavored in the same way as yogurt. Schulz (8) compiled dozens of recipes of quark-based dishes and appetizers, many of them well suited for infants and children.

A commercial operation can very well produce two varieties of quark: one from skim milk, and another from cream-enriched milk. The sales price is then mainly determined by the butterfat content of the products. This makes it possible to offer a high-protein, low-fat food at a very reasonable price to the groups of people who need it most.

Sale of these products. Presenting yogurt and quark for sale is somewhat of a problem in many Third World countries. There is no use in making a nutritionally valuable, safe and price-worthy food if it becomes contaminated between the manufacturer and the consumer. One possibility is to portion out the product at the sales outlet directly into vessels brought by the customers. While custard-like yogurt is normally sold in cups, a stirred yogurt and quark can be sold in plastic bags. The basic requirements are a packaging material which (a) protects the food, and, (b) is inexpensive.

RESUMEN

EL VALOR POTENCIAL DE PRODUCTOS LECHEROS CULTIVADOS EN LA NUTRICION INFANTIL

El autor sugiere que, bajo ciertas condiciones, la leche cultivada puede usarse en la nutrición infantil y de niños más bien que la leche líquida. Se comentan algunos de los principales problemas que presenta esta última, ya sea

fresca o reconstituida. Una revisión de la literatura sobre el tema indica que la suposición generalizada de intolerancia a la lactosa que priva en muchas poblaciones es un tanto exagerada, ya que el manejo inadecuado de la leche pasteurizada, muy a menudo es el factor responsable de los altos recuentos de bacterias y defectos organolépticos que ésta presenta. Los defectos cualitativos en cuestión son más pronunciados en aquellos países con clima cálido, siendo probable que la mayoría de las veces, el uso de agua contaminada en la reconstitución de la leche en polvo sea el responsable de la diarrea y de la intolerancia a la lactosa.

Por las razones expuestas, se sugiere la utilización de un producto de leche cultivada tal como el yogurt o el "quark", bajo condiciones apropiadas, cuyas ventajas son las siguientes: 1) Tiene un bajo pH causado por el alto contenido de ácido láctico, el cual tiene efectos adversos al deterioro del alimento y de los organismos patógenos de la leche. 2) La vida de anaquel del producto fermentado a temperatura ambiente es más larga. 3) Los productos elaborados con leche fermentada contienen la enzima lactasa, y ésta facilita la digestión de la lactosa residual, aun después de ingerida.

ACKNOWLEDGEMENTS

The author is sincerely grateful to Dean Emeritus Myrone E. Wegman, M.D. and Frances A. Larkin, Ph. D., who offered many helpful suggestions during the preparation of this manuscript.

BIBLIOGRAPHY

1. Deeth, H.C. & A.Y. Tamime. Yogurt: nutritive and therapeutic aspects. c.f. *J. Food Protection*, 44:78, 1981.
2. Jelliffe, D.B. *Infant Nutrition in the Subtropics and Tropics*. Geneva, World Health Organization, 1968, 172 p. (WHO Monograph Series No. 29).
3. Kon, S.K. *Milk and Milk Products in Human Nutrition*. Rome, Food and Agriculture Organization, 1959, 75 p. (FAO Nutritional Studies No. 17).
4. Lembke, A. Lait fermentés et habitudes alimentaires. *Ann Bull. Féd. Int. Lait* (Part III), 22, 1964.
5. Punch, J.D., J.C. Olsen & E. L. Thomas. Psychrophilic bacteria. III. Population levels associated with flavor or physical change in milk. *J. Dairy Sci.*, 48:1179, 1965.

6. Rašić, J. Li. & J. A. Kurmann. **Yogurt: Scientific Grounds, Technology, Manufacture and Preparation**. Copenhagen, Denmark, Tech. Dairy Publ. House, 2720 Vanløse, 1978, p. 12.
7. Robinson, Corinne, H. **Proudfit-Robinson's Normal and Therapeutic Nutrition**. 13th ed. New York and London, The Macmillan Co., 1967, 341 p.
8. Schülz, M.E. **Quark Spezialitäten Lexikon**. Volkswirtschaftl. Verlag, 8000 München, 1980.
9. Siegenthaler, E.J. Lagerzeit, Temperaturen und Keimzahlen in Pasteurisierte Milch in den USA. **Milchwissenschaft**, **33**:273, 1978.
10. Speck, M.L. Control of food-borne pathogens by starter cultures. **J. Dairy Sci.**, **55**:1019, 1972.
11. Torún, B., N.W., Solomons & E.F. Viteri. Lactose malabsorption and lactose intolerance: implications for general milk consumption. **Arch. Latinoamer. Nutr.**, **29**:445, 1979.
12. Wolff, E.T., D.K. Bandler & R.O. Brown. Milk quality in the New York public school system. **J. Milk Food Technol.**, **38**:223, 1975.
13. Wüthrich, J. Fabricación de requesón, yogurt y quark. Cooperativa XELAC. Quezaltenango, Guatemala, 1981.

PROCEDIMIENTOS BASICOS EN EL REGISTRO Y PROCESO DE DATOS

Miguel A. Guzmán¹, Ricardo Sibrián² y Rafael Flores²

Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP),
Guatemala, Guatemala, C.A.

RESUMEN

Se describen los principios generales que deben aplicarse como marco de referencia para identificar procedimientos apropiados en el manejo de datos recolectados en estudios de gran escala.

La descripción se hace en función de dos aspectos fundamentales: 1) el registro de datos y 2) el proceso de datos. En la primera parte (registro de datos), se definen las diferentes etapas a desarrollar en la preparación de formularios y/o cuestionarios, y en la recolección de datos. En la segunda parte

Manuscrito modificado recibido: 29-3-83.

1 En la época en que se llevó a cabo este trabajo, el Dr. Guzmán ocupaba el cargo de Jefe de la División de Estadística del Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP), Guatemala, C.A. Su título actual es: Professor, Department of Pathology and Department of Biometry, Louisiana State University Medical Center, Perdido St., New Orleans, La., 70112, U.S.A.

2 Estadísticos, División de Estadística del INCAP, Apartado Postal 1188, Guatemala, Guatemala, C.A.

(proceso de datos) se delinear las etapas a ser implementadas para lograr el control de calidad, realizar la codificación, y efectuar el ingreso de datos para su análisis. Con relación a este último aspecto, se propone un esquema de trabajo continuo por etapas, y se identifican algunos de los métodos estadísticos de uso común al someter a prueba diversas hipótesis.

El proceso se ilustra usando diagramas de flujo para algunas fases del proceso, en los que se señala en particular que el proceso y análisis de datos deben constituir una acción continua de principio a fin. Este debe definirse cuidadosamente en un protocolo de operaciones que norme todas las acciones del proceso.

INTRODUCCION

Los datos constituyen el nexo entre el diseño experimental y los resultados de una investigación. Por lo tanto, los aspectos relacionados con el registro y proceso de datos ameritan cuidadosa atención.

Los conocimientos requeridos para el manejo y análisis de datos sugieren que especialistas en estos campos sean incluidos en el equipo de la investigación, participando desde un principio en la planificación, ejecución, y evaluación de resultados.

En este trabajo se describen conceptos básicos para el registro y proceso de datos, los cuales pueden usarse como marco de referencia para el establecimiento de procedimientos adecuados en investigaciones específicas. La Figura 1 constituye un resumen de las etapas que se discuten seguidamente.

REGISTRO DE DATOS

1. *Objetivo*

Su objetivo es almacenar temporal o permanentemente la información recolectada. Las hipótesis y objetivos de la investigación definen la naturaleza de los datos a recolectar, pero en todo caso, hay necesidad de elaborar formularios y/o cuestionarios para anotar esa información. Es preferible el uso de formularios precodificados ya que permite el registro directo de información con mayor rapidez y minimiza posibles fuentes de error.

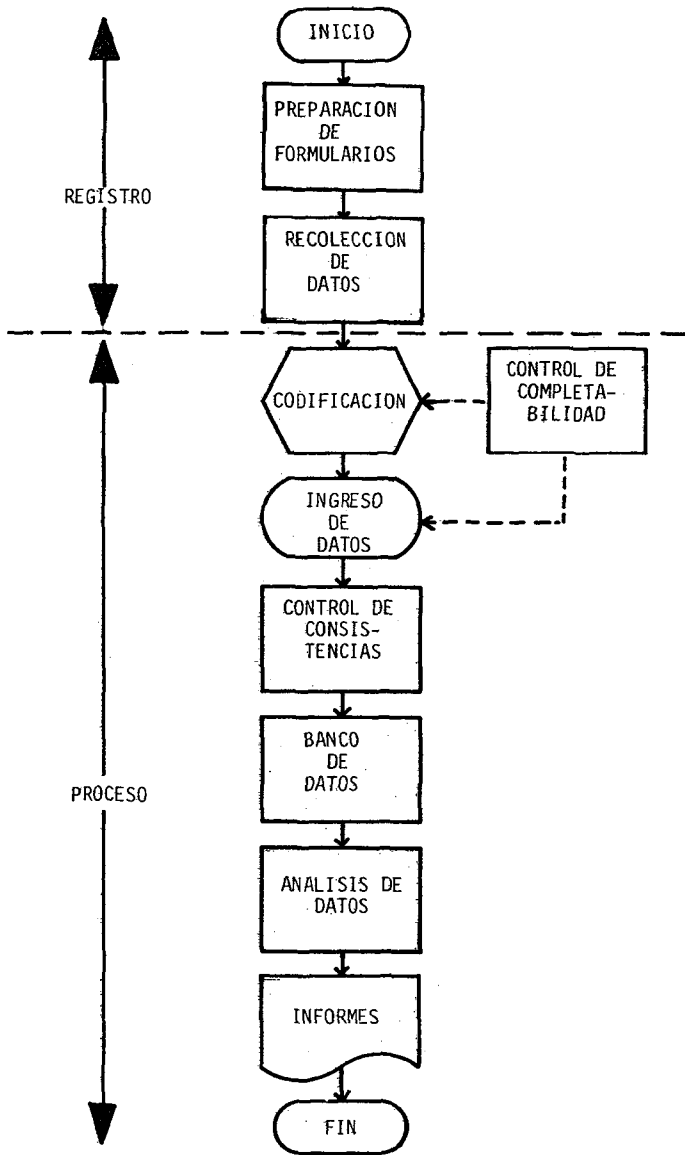


FIGURA 1

Etapas del registro y proceso de datos

2. *La Preparación de Formularios*

Esta consiste en producir en su versión final, todos los formularios y/o cuestionarios que servirán para recolectar los datos y que, en general, constan de encabezado y cuerpo. El encabezado contiene información útil para el personal encargado del proceso de datos, y el cuerpo, espacio para el registro de datos pertinentes a cada una de las diferentes áreas de la investigación. Las fases a cubrir en esta etapa generalmente se refieren al diseño de formularios, preparación de instructivos y manuales de codificación, pre-pruebas y revisiones. En este proceso existe opción para el entrenamiento y estandarización del personal que se encargará de recolectar los datos. Para determinar la confiabilidad de los formularios, así como para la estandarización del personal, se requiere el uso de técnicas estadísticas apropiadas (1-4). Una muestra de 20 a 30 formularios suele ser generalmente suficiente para este propósito.

3. *La Recolección de Datos*

Esta etapa puede iniciarse cuando los investigadores estén satisfechos con el nivel de entrenamiento y estandarización del personal encargado de la recolección de datos y con la versión final de los formularios y/o cuestionarios. Debe integrarse en un manual de operaciones de la investigación (MOI) (2) una descripción de cómo anotar la información, y de las técnicas y procedimientos a seguir para la recolección de datos. Varios son los errores que pueden surgir en esta etapa de recolección, los cuales es factible que alteren la interpretación de los resultados. Es usual que tales errores estén asociados con omisiones al llenar los formularios cuando se efectúan las entrevistas, ausencia de datos, mala interpretación por parte del entrevistado, desconocimiento de la respuesta por parte del mismo, mala interpretación intencionada por parte del entrevistado y errores del propio entrevistador (5). Con miras a controlar la calidad de los datos a este nivel, se requiere de una buena supervisión en el lugar de la recolección (6).

PROCESAMIENTO DE DATOS

El procesamiento de datos es el tratamiento de la información después de recolectada. En estudios pequeños este tratamiento es básicamente manual, mientras que en aquéllos de mayor

escala se requiere del uso de medios electrónicos. Esta etapa generalmente exige atención en los siguientes rubros.

1. *Codificación*

La codificación se puede iniciar aun antes de empezar la recolección de datos. Por ejemplo, es factible pre-codificar algunos rubros en el encabezado de los formularios, usando para ello las facilidades de computación. Sin embargo, y en general, los formularios y/o cuestionarios son codificados después de recolectar los datos. En este caso es aconsejable que la codificación se realice tan pronto como sea posible, de preferencia el mismo día de la recolección.

2. *Entrada de Datos*

Esta operación puede variar desde la tradicional tarjeta perforada de 80 columnas hasta la entrada directa desde el aparato de medición. Cuando la recolección y el proceso de datos se lleva a cabo en el mismo lugar, es factible establecer sistemas automáticos para la entrada de datos directamente en línea. Cuando la investigación requiere encuestas de gran envergadura y el origen de los datos es remoto al procesamiento, un sistema de perforación-cinta, sería mucho más apropiado que un sistema interactivo.

3. *Control de Calidad de los Datos*

Este rubro comprende dos aspectos: la completabilidad y la consistencia. La completabilidad se refiere al hecho de verificar que cada pregunta haya sido respondida y que los elementos de identificación del formulario (encabezado) estén completos. En general, aunque no necesariamente, la completabilidad se ejecuta después de la codificación. Esta revisión puede incluir procedimientos simples tales como el control de mínimos y máximos para cada elemento o procedimientos complejos como la revisión contra un inventario detallado de combinaciones correctas de códigos para unidades primarias, secundarias y terciarias de acuerdo a su composición. La revisión de completabilidad para el cuerpo del formulario se refiere tanto a la ausencia como a la presencia de respuestas cuando estas situaciones proceden. Especial atención debe darse a situaciones en las que existen conjuntos de respuestas relacionadas entre sí. Cuando la revisión de completabilidad se desarrolla inmediatamente después de la recolección de datos, es posible

recuperar bastante información; en tal sentido esta alternativa deberá especificarse como una acción rutinaria dentro del MOI.

La consistencia concierne a la detección de contradicciones originadas en los datos. Los procedimientos para aplicar este control usualmente se relacionan con rangos admisibles, relaciones aritméticas, lógicas y especiales entre dos o más respuestas. Los controles de rangos admisibles se aplican con mayor frecuencia a datos básicos que a datos derivados. En general, los controles de relaciones aritméticas se aplican a respuestas de naturaleza continua. Estas relaciones comprenden: a) valores de respuestas mayores en una pregunta con respecto a otra ($A > B$); b) valores de respuestas mayores o iguales de una pregunta con respecto a otra ($A \geq B$); y c), valores de respuestas iguales ($A = B$). En la Tabla 1 se proporciona un resumen de algunas relaciones aritméticas. Los

TABLA 1

**ESQUEMA Y EJEMPLOS DE DIFERENTES CONTROLES
ARITMETICOS Y LOGICOS DE DATOS**

ARITMETICOS:

1) $A > B$ 2) $A \geq B$ 3) $A = B$

LOGICOS: Entre dos respuestas y entre más de dos respuestas

Prototipo de una vía:

Prototipo de doble vía:

Si $A = x$ entonces $B = y$

$A = x$ si y sólo si $B = y$

a. Si $a = 1$ entonces $B = 1, 3, 5$ e. $A = 1$ si y sólo si $B = 2, 5, 7$ b. Si $A = 2, 3$ entonces $B = 4, 6$ f. $A = 1, 3, 6$ si y sólo si $B = 3-18$ c. Si $A = 1-10$ entonces $B = 3-18$ g. $A = 1-10$ si y sólo si $B = 5$ d. Si $A = 1-14, 8-12$ entonces $B = 2-12$ h. $A = 1-4$ si y sólo si $B = 5-7, 15-30$ i. Si $A = 1$ y $B = 2$ entonces $C = 5, 10, 11$ l. $A = 1$ y $B = 2$ si y sólo si $C = 5, 10, 11$ j. Si $A = 1-5$ y $B = 10-20$ entonces $C = 2-8$ m. $A = 1-5$ y $B = 10-20$ si y sólo si $C = 2-8$ k. Si $A = 1-5$ y $B = 1-5$ entonces $D = 5-10$

Nota: A, B, C y D son respuestas que están relacionadas.

controles de relaciones lógicas se fundamentan en la dependencia de una respuesta con respecto a otra u otras; por ejemplo, el peso corporal depende del sexo y la edad, por lo que un sujeto de sexo masculino de 30 meses de edad no podrá tener un peso fuera de determinados valores. Se pueden implementar también otros controles más sofisticados, tales como el control de rutas de respuestas, basado en la construcción de "árboles" que describen "rutas" de respuestas consideradas como aceptables. En la misma Tabla se incluyen algunos ejemplos de relaciones lógicas.

Al encontrar inconsistencias internas, surgen las siguientes alternativas: a) revisión de datos originales con el fin de decidir su recuperación y aceptación o rechazo, b) eliminación automática del dato en cuestión, c) eliminación automática del dato en cuestión y revisión con respecto a la decisión de otros datos relacionados, y d) eliminación completa del formulario. Es necesario elaborar un catálogo de errores a fin de facilitar la toma de decisión con respecto a cada error identificado.

4. *Banco de Datos*

El banco de datos está formado por el conjunto de archivos limpios, adecuadamente documentados y generados en la etapa anterior. A partir del banco de datos se puede crear un archivo maestro uniendo los diferentes archivos en base a sus diferentes claves de identificación (encabezado). Una vez formado el archivo maestro, debidamente documentado, se puede dar inicio a la etapa de análisis. En sistemas de computación con capacidad para el manejo de bases de datos, el banco de datos es la fuente original para crear la estructura de la base (7). La etapa de banco de datos no es estática; por el contrario, es muy dinámica y requiere acción continua mientras no se termine el análisis y la interpretación de los datos.

5. *Análisis de Datos*

Relaciona la información y las hipótesis de la investigación. Una descripción básica de cada una de las variables continuas en términos de promedios, desviación estándar, mínimos y máximos y número de casos, resulta muy informativa, mientras que para variables discretas, son más útiles las tablas de frecuencia para cada categoría. Con esta descripción básica se corroboran los procedimientos de limpieza de la etapa de control de calidad, y al mismo tiempo, se obtiene un patrón preliminar del comportamiento de

las variables. Una vez asegurada la limpieza, es factible iniciar el análisis de datos con las pruebas de las hipótesis, utilizando las pruebas de "t" de Student y el análisis de varianza (prueba de F) para comparaciones entre dos y más clases, respectivamente (8-10), asumiendo que los supuestos requeridos para estas técnicas han sido satisfechos. Las tendencias y asociaciones entre dos y más variables, se pueden examinar a través del análisis de regresión y de correlación simple y múltiple (11-13). La clasificación e identificación de grupos de observaciones pueden obtenerse a través de técnicas de análisis discriminatorio y de agrupación (14-18), mientras que la identificación de interrelaciones entre variables de diferente naturaleza puede examinarse por medio del análisis de factores (19). Finalmente, es factible realizar el estudio de interrelaciones entre varias variables dependientes e independientes valiéndose de técnicas de análisis canónico (17). En los casos en que no sea posible satisfacer los supuestos para las anteriores pruebas, se utilizarán técnicas no paramétricas (20-22).

Es preciso mencionar aquí que para el análisis de datos, si ello es factible, es muy conveniente utilizar paquetes estadísticos tales como: SAS, BMDP y SPSS, ya que los mismos aumentan la productividad dada la gran cantidad de técnicas disponibles para el análisis y la velocidad de ejecución. Si estos paquetes están disponibles, los recursos de programación son mínimos y el manejo de la información para pruebas de hipótesis es un proceso relativamente sencillo. En la Figura 2 se ilustra gráficamente un resumen de las acciones por lo general requeridas para el análisis de datos (23).

6. *Elaboración de Informes*

Los informes se elaboran en términos generales para toda la investigación, y en forma separada para cada una de las áreas sometidas a estudio.

SUMMARY

BASIC PROCEDURES IN THE DATA RECORDING AND PROCESSING

This paper describes the general principles that must be used as a frame of reference to identify the appropriate procedures for the management of

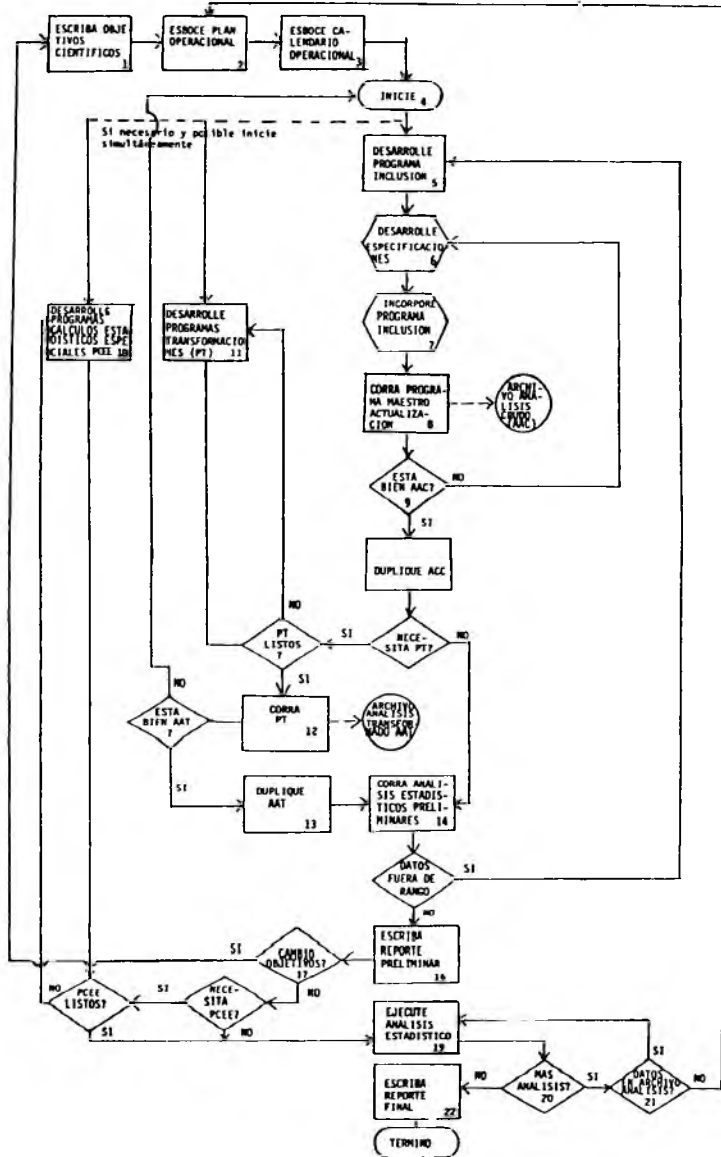


FIGURA 2

Diagrama de flujo para las acciones a ejecutar en el análisis de datos

data collected in large scale studies.

It has two parts: 1) Data recording and, 2) data processing. In the first part (data recording), the various steps required for the preparation of forms and/or questionnaires and for the recollection of data are discussed. In the second part (data processing), the steps to achieve real quality control, proper coding and data entry for analysis are described. For the latter case, an outline of continuous general steps is proposed, and some statistical procedures commonly used for testing different hypotheses are identified.

The overall process is illustrated through flow charts, emphasizing the fact that the processing and analysis of data, must be a continuous action which requires careful definition in the standard protocol of operations.

BIBLIOGRAFIA

1. Selltiz, C., S. Wrightsman & S.W. Cook. **Research Methods in Social Relations**. 3rd ed. New York, N.Y., Holt, Rhinehart and Winston, 1976.
2. Guzmán, M.A., C.A. McMahan, H.C. McGill, J.P. Strong, C. Tejada, C. Restrepo, D.A. Eggen, W.B. Robertson & L.A. Solberg. Selected methodologic aspects of the international atherosclerosis project. *Lab. Invest.*, **18**: 479-497, 1968.
3. Habitch, J-P. Estandarización de métodos epidemiológicos cuantitativos sobre el terreno. *Bol. Of. San. Pan.*, **76**: 375-384, 1974.
4. Guzmán, M.A. Some consideration in the design and execution of nutritional field studies. En: **Amino Acid Fortification of Protein Foods**. N.S. Scrimshaw and A.M. Altschul (Eds.). Cambridge, Mass., The MIT Press, 1971, p. 301-315.
5. Feber, R., D.P. Sheatsley, A. Turner & J. Waksberg. **What is a Survey?** Washington, D.C., American Statistical Association, 1980.
6. Cosley, D.J. & D.A. Luny. **Data Collection in Developing Countries**. New York, N.Y., Oxford University Press, 1981.
7. Burch, J.G. & F.R. Strater. **Information Systems: Theory and Practice**. New York, N.Y., John Wiley & Sons Inc., 1974.
8. Scheffe, H. **The Analysis of Variance**. New York, N.Y., John Wiley & Sons Inc., 1969.
9. Snedecor, G.W. & W.G. Cochran. **Statistical Methods**. 6th ed. Ames, Iowa, The Iowa State University Press, 1967.
10. Eisenhart, C. The assumption underlying the analysis of variance. *Biometrics*, **3**: 1-21, 1947.
11. Searle, S.R. **Linear Models**. New York, N.Y., John Wiley & Sons Inc., 1971.

12. Graybill, F. A. **An Introduction to Linear Statistical Models.** Vol. 1. New York, N. Y., McGraw-Hill Book Company, 1961.
13. Neter, J. & W. Wasserman. **Applied Linear Statistical Models.** Homewood, Ill., Richard D. Irwin, Inc., 1974.
14. Hartigan, J. A. **Clustering Algorithms.** New York, N. Y., John Wiley & Sons Inc., 1975.
15. Tatsuoka, M. M. **Discriminant Analysis.** Champaign, Ill., Institute for Personality and Ability Testing, 1970.
16. Timm, N. M. **Multivariate Analysis with Application in Education and Psychology.** Belmont, Ca., Wadsworth, 1975.
17. Green, P. E. **Analyzing Multivariate Data.** Hinsdale, Ill., The Dryden Press, 1978.
18. Morrison, D. F. **Multivariate Statistical Methods.** 2nd ed. New York, N. Y., McGraw-Hill Book Company, 1976.
19. Lawley, D. N. & A. E. Maxwell. **Factor Analysis as a Statistical Method.** London, Butterworths, 1963.
20. Hollander, M. & D. A. Wolfe. **Nonparametric Statistical Methods.** New York, N. Y., John Wiley & Sons Inc., 1973.
21. Harshbarger, T. R. **Introductory Statistics.** 2nd ed. New York, N. Y., MacMillan Publishing Co. Inc., 1977.
22. Marascuilo, L. A. & M. McSweeney. **Nonparametric and Distribution-free Methods for the Social Sciences.** Monterrey, CA., Brooks/Cole Publishing Co., 1977.
23. Helms, R. W. **Data Analysis Procedures for a Coordinating Center of a Large Collaborative Study.** Chapel Hill, N. C., The Institute of Statistics, 1975 (Mimeo Series No. 1003).

TRABAJOS DE INVESTIGACION

CORN AMINO ACID IMBALANCE AND THE ROLE OF LEUCINE EXCESS

Rebeca C. de Angelis¹ and I. C. M. Terra²

Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo,
São Paulo, Brasil

SUMMARY

A study was conducted using two experimental models with weanling rats of the Wistar strain fed isocaloric diets containing 7% protein, *Model I*: two genetic varieties of maize were used; common corn (CC) or opaque-2-corn (M); and *Model II*: casein, 7% protein used without nicotinic acid in the diet in order to enhance the tryptophan limiting conditions like in the CC diet of Model I. PER, nitrogen balance, urinary urea and hepatic fat were determined. The results suggest that the imbalance of CC protein is related to lysine and tryptophan limitation, although the leucine excess content also plays an important role.

INTRODUCTION

Protein malnutrition has been a subject of much concern in many parts of the world, due to its high priority. Nutritional

Manuscrito modificado recebido: 29-1-83.

1. Associate Professor and Chief, Nutrition Center, Department of Physiology and Biophysics of the Institute of Biomedical Sciences, University of São Paulo. C. Postal 4365, 01000 São Paulo, Brasil.
2. Professor of Nutrition of the same Department.

disorders are dependent on socioeconomic and cultural conditions, as well as on human resources (1). In regions with easy access to animal protein sources where malnutrition exists, death and hunger are less frequent than among populations whose alimentary system is based mainly on vegetable foods, without any chance of obtaining foods of higher nutritional value.

Data from the Food and Agriculture Organization of the United Nations (2) show that maize consumption in Latin America is higher than any other food. In Guatemala, Mexico and Brazil, the average maize intake/person/day is 349, 272 and 200 g, respectively, quantities which provide 33.2, 25.2 and 19.3 g of protein. Thus, improvement of the protein quality of plants, especially cereals—one of the basic protein sources (3, 4)—would be extremely important in human nutrition mainly in developing countries (5).

For a long time it has been known that the quality of corn protein is not satisfactory (6), but it was until 1956 that the nature of the imbalance was identified (7-11) and others related to the fact that prolamines, which contribute with more than 50% of the corn proteins, are deficient in lysine and tryptophan. Mertz *et al.* (12-14) demonstrated that the gene Opaque-2 from Opaque-2 corn produced a genetic variety containing a balanced amino-gram. Several papers were subsequently published showing a better utilization of protein from these genetic variations (15-21).

The purpose of the present investigation was to study the nutritive value of the maize protein and the role played by the excess of leucine it contains.

MATERIAL AND METHODS

Animals and Diets

Weanling rats (*Rattus norvegicus albinus*, Wistar), of both sexes averaging 48 g in weight were used in this study.

Diet and water were provided *ad libitum* and the composition is shown in Table 1.

Experimental Design

Model I — The animals of each group (10/group) were fed for eight weeks diets containing a) 70% protein from common

TABLE 1

DIET COMPOSITION AND AMINO ACIDS ADDED (g/100 g)

	Protein ¹ 70/o	Minerals ²	Cod liver oil	Vegetable oil	Vitamins ³	Vitamin-NA ⁴	Lysine ⁵ (lys)	Tryptophan ⁶ (try)	Leucine ⁶ (leu)
Model I	CC	2	2	4	2	—	—	—	—
	CC	2	2	4	2	—	0.14	0.04	—
	CC	2	2	4	—	2	—	—	—
	M	2	2	4	2	—	—	—	—
	M	2	2	4	2	—	—	—	0.6
	M	2	2	4	—	2	—	—	—
	M	2	2	4	—	2	—	—	0.6
Model II	Cas	2	2	4	2	—	—	—	—
	Cas	2	2	4	2	—	—	—	1
	Cas	2	2	4	—	2	—	—	—
	Cas	2	2	4	—	2	—	—	1
	Cas	2	2	4	—	2	—	0.18	—

¹ CC = Common corn; M = Opaque-2 corn; Cas = Casein.
² Phillips & Hart (1935) modified (37).
³ According to Ref. (37).

⁴ Vitamins, but niacin free.
⁵ Matching lysine and tryptophan to M content.
⁶ Matching leucine to CC content corn starch was added until completing 1000/o.

corn (CC), b) opaque-2 corn (M), with or without addition of nicotinic acid (NA) and supplemented or not with the limiting amino acids in CC (lysine and tryptophan), and c) M additioned with the equivalent amount of leucine present in CC.

Model II — The animals of each group were fed for eight weeks diets containing 70/o protein as casein, supplemented or not with NA.

In both models the weight gain, PER (protein efficiency ratio), urinary urea, nitrogen balance, hepatic fat and plasma proteins were determined.

Determinations

PER. This was evaluated by relating gain weight to grams of protein intake.

Nitrogen Balance (NB). Nitrogen retention was calculated by difference between ingested and excreted nitrogen. The collection period lasted four days, and nitrogen was determined using the Kjeldahl method (22).

Urinary urea. This was determined according to Levine *et al.* (23); *plasma proteins* by the biuret method (24), and *liver fat* as per the procedure of Kramer *et al.* (25).

The *statistical analyses* were performed using analysis of variance and the Tukey Test (26).

RESULTS

Model I

Table 2 presents the results of PER and urinary urea obtained at the 3rd and 8th week of experiment.

As the data show, the PER values for M diets were significantly higher than those obtained for CC and were not affected by the presence or absence of nicotinic acid in the diet. A decrease in PER was always observed when leucine was added to the M diet in an equivalent amount to that in CC. On the other hand, the addition of lys + try to CC improved the PER, but the values did not reach those obtained with M; these data agreed with other results

TABLE 2

DETERMINATION OF PER AND URINARY UREA IN TWO GROWTH PERIODS ON DIETS CONTAINING 7% PROTEIN OF DIFFERENT SOURCES (MODEL I)

Diet/group	PER	Urea (g/100 ml)	
		3rd week	8th week
CC ¹	0.94	2.40	2.50
CC + (lys) ² + (try) ³	1.45	1.20	1.80
CC - (NA)	0.94	2.20	2.90
M	2.15	1.63	1.83
M + (leu) ⁴	1.83	3.92	4.19
M - (NA)	2.15	2.91	2.28
M - (NA) + (leu)	2.00	3.94	3.26

n = 5.

¹ Same as in Table 1.

² Lysine, 0.14%.

³ Tryptophan, 0.04%.

⁴ Leucine, 0.6%.

obtained in our laboratory (27, 28). In relation to the animals in the M group, an increase of urinary urea excretion in rats of the CC group without any supplementation was observed, as well as for M with leu addition.

Table 3 depicts the results of nitrogen balance performed at the 6th experimental week; the addition of lys + try to CC improved nitrogen retention, while that of leu to M decreased it. The best N retention was obtained with the M diet.

The results obtained for growth rate, total plasma protein (TPP), and hepatic fat (HF), for groups of Model I, are shown in Table 4. Growth rate was highest in the group fed the M diet, with or without additional NA, followed by M plus leucine, then by CC supplemented with lys + try, while the CC diet without supplementation produced the lowest weight gain. Hepatic fat was higher in animals fed the M + leu diet, reaching the results obtained by the CC group. The diet of CC prepared without NA gave the highest hepatic fat values of all groups.

TABLE 3

NITROGEN BALANCE (NB) OBTAINED IN RATS FED DIETS
CONTAINING 7% PROTEIN OF DIFFERENT SOURCES
(mg N/24 hr) AT THE 6th WEEK

Diet/group ¹	NI ²	NB ^{3, 6}	D ⁴	N retained ⁵
CC	99.6	49.5(a)	71.3	49.6
CC + (lys) + (try)	119.6	72.5(b)	81.1	60.6
CC - (NA)	91.3	39.1(a)	65.4	42.8
M	133.0	81.1(c)	79.3	60.9
M + (leu)	129.0	48.0(a)	67.3	37.2
M - (NA)	138.0	70.4(b)	75.2	51.0
M - (NA) + (leu)	117.0	34.7(a)	65.7	29.6

¹ Same as in Table 1.

² NI = Ingested nitrogen.

³ NB = Nitrogen balance = ingested nitrogen - (fecal + urinary nitrogen).

⁴ D = Absorbed nitrogen: digestibility.

⁵ N retained = (NB/ingested nitrogen) x 100.

⁶ Numbers with different letters are significantly different at the 5% level. Numbers with the same letters = NS.

Model II

In this Model it was decided to use casein instead of CC in the diet without added NA in order to decrease the available tryptophan pool with the results shown in Table 5. As observed, the growth rate decreased mainly due to leu addition, and not to nicotinic acid absence. Aside from this fact, the added leucine in the absence of nicotinic acid further decreased the growth rate, while the addition of tryptophan reverted the effect of absence of nicotinic acid.

DISCUSSION

All diets used in this investigation were prepared to contain 7% protein, since usually diets based on maize as the staple food

TABLE 4

GROWTH RATE, TOTAL PLASMATIC PROTEIN (TPP) AND
HEPATIC FAT (HF) OBSERVED IN ANIMALS AT THE 6th WEEK
(MODEL I)

Diet/group ¹	Growth rate (g/day)	TPP (g/100 ml)	HF (g/100 g)
CC	0.51 ^{(a)2}	4.60 ³	7.90 ^{(a)2}
CC + (lys) + (try)	1.14 ^(b)	5.10	5.50 ^(b)
CC - (NA)	0.54 ^(a)	4.60	9.70 ^(c)
M	1.78 ^(c)	6.40	4.10 ^(d)
M + (leu)	1.48 ^(d)	4.70	7.60 ^(a)
M - (NA)	1.85 ^(c)	5.70	5.40 ^(b)
M - (NA) + (leu)	1.46 ^(d)	5.10	7.60 ^(a)

n = 5.

¹ Same as in Table 1.

² Numbers with different letters are significantly different at the 50/o level. Numbers with the same letters = NS.

³ No statistical analysis was performed, as this item represents the average obtained from a pool of samples in each group.

are low in it. CC is limited in lys and try, as the data on Table 2 reveal, and the supplementation of lys and try to CC improved the results by increasing the PER and decreasing the urinary urea. On the other hand, the absence of nicotinic acid in the diet did not influence the PER values, although leucine addition to the diet without NA, in the M diet led to an increase in urinary urea.

The nitrogen balance results in animals fed the CC diet improved significantly by supplementation (lys + try) (Table 3), even though it did not reach the nitrogen retention obtained by those fed the M diet. It was surprising to obtain equivalent nitrogen retention in the M and in CC groups supplemented with the limiting amino acids, as well as with the CC diet free of nicotinic acid, and M without it but with the addition of leu. These data suggest the important role leu excess plays in increasing the nicotinic acid demand. As a protein-free group was not included, it was impossible to determine the real NB, but the

relative NB of the different groups showed the differences in protein quality.

Leu excess causes adverse effect under different experimental conditions. For example, Benton *et al.* (7) showed a sensible reduction of the growth rate by a 30% or higher addition of leu, to a diet containing 90% casein; nevertheless, Smith (29) noticed a small effect on diets containing 120% casein. Maramatsu *et al.* (30) suggest that the leu excess effect may be due to contamination by isoleucine. On the other hand, Bressani *et al.* (15), point out that the amino acid imbalance difficults removal of fat from the liver. Whenever nicotinic acid ingestion is adequate, its synthesis from tryptophan becomes inhibited through a feed-back reaction. However, under a low nicotinic acid diet, more tryptophan must be metabolized to nicotinamide, thus decreasing availability of the tryptophan pool.

The purpose of the experimental Model II was to enhance the effect of lack of tryptophan and leucine excess by reducing the NA of the diet. According to results presented in Table 4, it can be observed that the absence of nicotinic acid by itself does not impair casein results, either for growth rate, HF or TPP. Nevertheless, nicotinic acid absence and leucine excess in the diet decrease growth rate of the animals, and promote an increase in the hepatic fat.

Children with protein-energy malnutrition often present increased fat deposits in the liver, the amount varying according to the type of carbohydrate in the diet (31-34). In our study, the carbohydrate did not vary (Table 5) and the amount of hepatic fat increased according to the imbalanced aminogram of the protein in the diet (33).

The addition of tryptophan to the "cas + leu" diet improved the growth rate and TPP, suggesting competition between nicotinic acid and tryptophan. The addition of tryptophan, however, did not decrease liver fat infiltration. This fact suggests that the excess of leucine is involved in the fat deposit in the liver, while nicotinic acid does not play an important role in this process. Sakakibara suggests that the decrease in the hepatic NAD content in rats fed a leu-supplemented diet is mainly due to competitive inhibition of the intestinal absorption of tryptophan (35).

Our results suggest that the excess of leucine in CC diets, impairs growth rate, and increases the nitrogen excretion, decreasing nitrogen retention and plasma protein and increasing the fat liver deposit. A leucine excess also increases nicotinic acid demand.

TABLE 5

GROWTH RATE, TOTAL PLASMATIC PROTEIN (TPP),
AND HEPATIC FAT (HF OF ANIMALS) FED DIETS CONTAINING
7% PROTEIN (CASEIN) AT THE 8th WEEK (MODEL II)

Diet/group ¹	Growth rate (g/day)	TPP (g/100 ml)	HF (g/100 g)
Cas	1.36(a) ²	4.98 ³	3.86(c) ²
Cas + (leu)	0.94(b)	4.90	5.50(b)
Cas - (NA)	0.97(b)	4.97	3.71(c)
Cas - (NA) + (leu)	0.79(c)	4.43	5.57(b)
Cas - (NA) + (leu) + (try)	0.94(b)	4.95	6.40(b)

n = 5.

¹ Cas = Casein.

Leu = Leucine.

NA = Niacin free.

² Numbers with different letters are significantly different at the 5% level.

Numbers with the same letters = NS.

³ No statistical analysis was performed, as this item represents the average obtained from a pool of samples in each group.

RESUMEN

IMBALANCE DE AMINOACIDOS EN EL MAIZ Y EL PAPEL QUE DESEMPEÑA EL EXCESO DE LEUCINA

Se llevó a cabo un estudio en dos modelos experimentales usando ratas recién destetadas de la cepa Wistar, las que se alimentaron con dos dietas isocalóricas que contenían 7% de proteína. En la elaboración de la dieta *Modelo I* se utilizaron dos variedades genéticas de maíz, maíz común (MC) o maíz Opaco-2 (M). La dieta *Modelo II* contenía: caseína al 7% de proteína libre de ácido nicotínico, a fin de realzar las condiciones limitantes del triptofano, al igual que en la dieta MC del *Modelo I*. Luego se determinó el balance de nitrógeno, urea urinaria y grasa hepática. Los resultados sugirieron que el desbalance de la proteína del MC está relacionado con las limitaciones en cuanto al contenido de lisina y triptofano, aun cuando el exceso de leucina también desempeña un papel de importancia.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors express their appreciation to FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa de Estado de São Paulo, Tese (36), and to the Nutrition Program of FINEP/IBEPGE.

They also wish to acknowledge the collaboration of L.A. Amaral, and the technical cooperation of José Salustiano Rocha and Perceles A. de Oliveira.

BIBLIOGRAPHY

1. Chaves, N. Carência protéica no nordeste brasileiro. *Arch. Bras. Nutr.*, **20**: 53-75, 1964.
2. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Food Balance Sheets. Rome, FAO, 1962.
3. Harpstead, D.D. High lysine maize in its proper perspective. In: *Annual Corn and Sorghum Research Conference*, 24th, 1969. Proceedings, p. 74-80.
4. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. La Cuarta Encuesta Alimentaria Mundial de la FAO. Roma, FAO, 1977.
5. Jansen, G.R. & P.W. Home. World problems in protein nutrition. *Am. J. Clin. Nutr.*, **15**: 262-274, 1964.
6. Osborne, T.B. & L.B. Mendel. Amino acids in nutrition and growth. *J. Biol. Chem.*, **17**: 325-333, 1914.
7. Benton, D.A., A.E. Harper, A.E. Spivey & C.A. Elvehjem. Leucine, isoleucine and valine relationship in the rat. *Arch. Biochem.*, **60**: 147-155, 1956.
8. Bressani, R. & E.T. Mertz. Studies on corn proteins. VI. Protein and amino acid content of different corn varieties. *Cereal Chem.*, **35**: 227-235, 1958.
9. Bressani, R., D. Wilson, M. Chung, M. Béhar & N.S. Scrimshaw. Supplementation of cereal proteins with amino acids. V. Effect of supplementing lime-treated corn with different levels of lysine, tryptophan and isoleucine on the nitrogen retention of young children. *J. Nutr.*, **80-84** 1963.
10. Sauberlich, H.E., W.J. Chang & W.D. Salmon. The amino acid and protein content of corn as related to variety and nitrogen fertilization. *J. Nutr.*, **51**: 241-250, 1963.
11. Scrimshaw, N.S., R. Bressani, M. Béhar & F. Viteri. Supplementation of cereal proteins with amino acids. I. Effect of amino acid supplement-

- tation of corn masa at high levels of protein intake on the nitrogen retention of young children. *J. Nutr.*, **66**: 485-499, 1968.
12. Mertz, L.S. & O.E. Nelson. Mutant gene that changes protein composition and increases lysine content of maize endosperm. *Science*, **145**: 279-280, 1964.
 13. Nelson, O.E. Genetic modification of protein quality in plants. *Adv. Agron.*, **21**: 171-194, 1969.
 14. Mertz, E.T., O.E. Nelson, L.S. Bates & O.A. Veron. Better protein quality in maize in world protein resources. In: *Advances in Chemistry Series*. R.F. Gould (Ed.) Washington, D.C., American Chemical Society, 1966, p. 228-242.
 15. Mertz, E.T., O.A. Veron, L.S. Bates & O.E. Nelson. Growth of rats fed on opaque-2 maize. *Science*, **148**: 1741-1742, 1965.
 16. Bressani, R. Protein quality of opaque-2 maize in children. *Proceedings of the Conference on High Lysine Corn, Indiana, June 21-22, 1966*. Washington, D.C., 1966, p. 34-39.
 17. Frey, K.J., B. Brindall & G.F. Sprague. The effect of selection upon protein quality in corn kernel. *Agron. J.*, **41**: 399, 1959.
 18. Amorin, P.J. O milho opaco-2 na alimentação humana. In: *Simpósio Brasileiro de Alimentação e Nutrição*, 3o., Campinas, 1971. *Anais*. p. 85-87.
 19. De Angelis, R.C. Valor do milho opaco 2 – III SIBAN, Belo Horizonte, M.G. Presented at: *Simpósio Brasileiro de Alimentação e Nutrição*, 1971.
 20. De Angelis, R.C. & L.A. Amaral. Sensibilidade de diferentes métodos biológicos para diferenciar valor protéico de alguns alimentos. *Arch. Latinoamer. Nutr.*, **31**: 253-269, 1981.
 21. De Angelis, R.C. *Modelos Experimentais para Estudo da Desnutrição Calórica-Protéica*. Tese para Livre-Docência. Universidade de São Paulo, 1976.
 22. Albanese, A.A. *Newer Methods of Nutritional Biochemistry*. Vol. I. New York, N.Y., Academic Press, 1963, p. 84.
 23. Levine, J.M., R. Leon & F. Steigmann. A rapid method for the determination of urea in blood and urine. *Clin. Chem.*, **7**: 488-493, 1961.
 24. Gornall, A.B., C.J. Bardawill & M.M. David. Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. *J. Biol. Chem.*, **177**: 751-766, 1949.
 25. Kamer, J.F. von de, H. Ten Bokkel Huinink & H.A. Weyers. Rapid method for the determination of fat in feces. *J. Biol. Chem.*, **177**: 347-355, 1949.
 26. Berquo, E. & M.R. Marques. *Análise de Variância*. Faculdade de Higiene e Saúde Pública, São Paulo, 1963, p. 1. Apostila da Disciplina

Estatística Matemática.

27. Bressani, R., L.G. Elías & R.A. Gómez-Brenes. Protein quality of Opaque-2 corn. Evaluation in rats. *J. Nutr.*, **97**: 173-180, 1968.
28. De Angelis, R.C., N.A. Saad, N. Takahashi, I.C.M. Terra & L.A. Amaral. The recovery of rats from protein deficiency by feeding proteins from different sources. *Arch. Latinoamer. Nutr.*, **24**: 433-442, 1974.
29. Smith, R.E. Effect of arginine upon the toxicity of excesses of single amino acids in chicks. *J. Nutr.*, **95**: 547-553, 1968.
30. Muramatsu, K., H. Odagiri, S. Morishita & H. Takeuchi. Effect of excess levels of individual amino acids on growth of rats fed casein diets. *J. Nutr.*, **101**: 1117-1121, 1971.
31. Leung, P.M.B. & W.R. Rogers. Disturbances in amino acid balance. In: **Total Parenteral Nutrition: Promises and Premises**. H. Ghardimi (Ed.) New York, N.Y., John Wiley & Sons. Ltd., 1975, p. 259-284.
32. McLaren, D.S. **Nutrition and its Disorders**. Edinburgh and London, Churchill Livingstone, 1972.
33. De Angelis, R.C. **Valor do Milho Opaco 2**. Presented at: III SIBAN, (Simpósio Brasileiro de Alimentação e Nutrição), Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil, 1971.
34. De Angelis, R.C., G. Santi, R.N. Rogano & M.G. Vecchia. Studies of absorption in protein depletion. *Arq. de Gastroenterologia*, **11**(4): 199-262, 1974.
35. Sakakibara, S., K. Fujii, S. Nasu, H. Imai, K. Yamaguchi & I. Nede. Effect of L-leucine supplemented diet on the nicotinamide adenine dinucleotide content of rat liver. *J. Nutr.*, **112**: 1688-1695, 1982.
36. Coward, D.G. & R.G. Whitehead. Experimental protein-energy malnutrition in baby baboons. Attempts to reproduce the pathological features of kwashiorkor as seen in Uganda. *Brit. J. Nutr.*, **28**: 223-237, 1972.
37. Phillips, P.H. & J.B. Hart. The effect of organic dietary constituents upon chronic fluorine toxicosis in the rat. *J. Biol. Chem.*, **109**: 157-663, 1935.

**GROWTH, DEVELOPMENT AND DENTAL CARIES IN RATS
FED TWO EXPERIMENTAL DIETS^{1, 2, 3}**

Jorge L. Sintes⁴ and Sanford A. Miller⁵

**Oral Science Laboratories, Department of Nutrition and Food
Science, Massachusetts Institute of Technology, Cambridge,
Mass. 02139, United States of America**

SUMMARY

In order to determine the nutritional adequacy of diets MIT 200 and NIH 2000 on the growth and development of experimental animals, these two diets were fed to two groups of animals during three periods of develop-

-
- ¹ Contribution No. 3776 of the Department of Nutrition and Food Science, Massachusetts Institute of Technology, Cambridge, Mass. 02139.
 - ² Supported by the National Institute of Dental Research Grant No. 5-T01-DE00105. Dr. Sintes was supported by a postdoctoral training fellowship provided by the National Institute of Dental Research, National Institutes of Health, Bethesda, Maryland.
 - ³ Presented in part at the *American Dental Association, Conference on Foods, Nutrition and Dental Health, Chicago, Il. October 1978* and at the *International Association for Dental Research, New Orleans, La., April 1979; J. Dent. Res., 58: 1326 (Abstract)*.
 - ⁴ Oral Health Research Center, 110 Fuller Place, Hackensack, N.J., 07601, USA.
 - ⁵ Food and Drug Administration, Bureau of Foods, 200 C Street, S.W., Washington, D.C. 20204, USA.

ment: 1) pregnancy; 2) lactation, and 3) post-weaning. These diets were compared with a diet that satisfied the requirements of the National Research Council for growth and maintenance. It was found that for the two experimental diets, growth was compromised due to a caloric deficit in both diets. In addition, NIH 2000 was deficient in other nutrients such as iron. Analysis of other parameters such as hemoglobin, hematocrit, salivary protein, saliva flow and weight of vital organs upon autopsy revealed a picture of iron deficiency in the NIH 2000 group. Caries formation can be precipitated by a mechanism influenced by a nutrient deficit.

INTRODUCTION

Nutrient supply during development can result in formative changes in teeth and salivary glands which may be irreversible. For example, Navia *et al.* (1) and Shaw and Griffiths (2) showed that changes in the form, morphology and eruption patterns of teeth are attributable to protein deficiency during critical developmental periods. In an extension of these observations, Menaker and Navia (3-5) demonstrated that the offspring of female rats fed a low protein diet grew slowly, were smaller in size, and had significantly increased susceptibility to caries relative to control animals, due to alterations in salivary gland morphology and function.

In addition to the intake of protein, a few experiments have been reported in which the effect of feeding diets low in mineral salts (i.e., calcium and phosphorus) have been studied on rat's teeth (6-9). It was found that the weights of the incisors were lower than in control animals and that the percentages of ash were reduced and of water increased (6-10). An important difference between the behavior of bone and teeth was suggested when a diet with normal salt content was fed to animals which were mineral-deficient. The ash content of the bone returned to normal but that of the teeth formed during the deprivation period remained unchanged (11).

Although iron is a major mineral element, and important for hemoglobin formation and the functional activity of a variety of enzymes, it is not considered normally part of the apatite molecule and bone structure. However, it appears essential for the formation of the orange-brown pigment that is characteristic of the enamel of the rodent incisors (1, 12). The pigmentation of the enamel is characteristic of the rat incisors and does not occur in the rat molars offering another criterion by which to evaluate

experimental effects of nutrient deprivation upon teeth. Smith and Lantz (13) for example, observed an absence or diminution of pigment in the incisors of anemic rats. This is a controversial area, for anemia can be caused by a series of nutritional deficits in addition to iron, for example protein, vitamin E, folic acid, vitamin B₁₂ and pyridoxine.

Caries-promoting diets have been successful in achieving their goal, that is, to produce caries in short periods of time. Nevertheless, it seems that the amount of some nutrients in the diet NIH 2000, i.e., iron, 16 ppm versus 35 ppm (National Research Council (NRC) recommendation for growing animals) is marginal for the rat. In addition, the constituents of the diet, i.e., whole wheat flour, have been suggested as a possible metal-binding agent that can interfere with the proper absorption of iron (14).

Implicit in the use of the standard caries-promoting diets, MIT 200 and NIH 2000, is their nutritional adequacy for growth and development of the young animal and maintenance of the mature rat. There is little information in the literature, however, concerning these parameters, particularly in terms of long periods of exposure since caries studies are generally restricted to 50 days of feeding or less. The purpose of this study was to determine the nutritional adequacy of diet MIT 200 and NIH 2000 relative to control diet, and to determine the effect of feeding these diets either pre- or postnatally or both, on the animal's subsequent response to a dental caries challenge.

MATERIALS AND METHODS

Experimental Design

In order to determine the effects of standard caries-promoting diets on the growth and development of the animals, the diets were fed during the following periods of development: 1) pregnancy; 2) lactation; and 3) post weaning. The following three diets were evaluated during each of the above periods:

Group

A MIT 25% protein diet (control), (Table 1)

TABLE 1

25% PROTEIN DIET COMPOSITION

	g/kg
Methionine	7
Casein	250
Dextrose	178
Sucrose	150
Dextrin	183
Corn oil	150
Salt mix, (Roger-Harper's) ¹	40
Vitamin mix ²	10
Choline	4

1 CaCO₃, 29.29; CaHPO₄·2H₂O, 0.43; KH₂PO₄, 34.31; NaCl, 25.06; MgSO₄·7H₂O, 9.98; Fe(C₆H₅O₇):6H₂O, 0.623; CuSO₄, 0.153; MnSO₄·H₂O, 0.121; ZnCl₂, 0.020; KI, 0.0005; (NH₄)₆Mo₇O₂₄·4H₂O, 0.0025; Na₂SeO₃·5H₂O, 0.0015.

2 Vitamin A acetate and vitamin D₂, 1.0; vitamin E (α-tocopheryl), 40.0; vitamin K (menadione), 0.5; thiamine, 1.0; riboflavin, 2.0; niacin, 5.0; vitamin C, 20.0; pyridoxine, 1.0; PABA, 10.0; biotin, 0.05; Ca pantothenate, 5.0; folic acid, 0.2; inositol, 20.0; vitamin B₁₂, 0.05 and sucrose, 889.25.

B MIT 25% protein diet, with oral inoculation of *S. mutans*⁶

C MIT 200 diet (Table 2)

D MIT 200 diet, with oral inoculation of *S. mutans*

E NIH 2000 diet (Table 2)

F NIH 2000 diet, with oral inoculation of *S. mutans*

1. Influence of caries-promoting diets during pregnancy

Forty pregnant female rats were delivered at the laboratory, three days after conception. Upon their arrival the dams were weighed, randomly assigned to experimental groups, and given the appropriate diet and deionized water *ad libitum*. Upon delivery,

6 Ingbritt 1600, Streptomyces resistant Strain, Forsyth Dental Center, Boston, Massachusetts, USA.

TABLE 2
COMPOSITION OF CARIOGENIC DIETS

Ingredients	NIH 2000 ¹	MIT 200 ²
	g/100 g	g/100 g
Sucrose (6x, pulverized)	56.0	67.0
Skim milk powder	28.0	—
Wheat flour, whole	6.0	—
Yeast (dry)	4.0	—
Alfalfa meal	3.0	—
NaCl	2.0	—
Liver powder (conc.)	1.0	—
Lactalbumin	—	20.0
Salt mixture	—	3.0
Vitamin mixture	—	1.0
Cottonseed oil	—	3.0
Cellulose	—	6.0

1 Keyes and Jordan, *Arch. Oral Biol.*, 9: 377-400, 1964.

2 Navia, Lopez and Harris, *J. Nutr.*, 97, 133-140, 1969.

litters were weighed, males separated from females, and litters of eight males prepared. The infant pups used in the experiment were all born within an eight to twelve hour time span. Dams were maintained on their respective diets until completion of lactation.

2. Influence of caries-promoting diets during lactation

Thirty-two dams with litters one day old; each containing eight males were utilized. The dams and litters were weighed, randomly assigned to experimental groups, and housed in plastic breeding tubs; food and deionized water were given *ad libitum*.

3. Influence of caries-promoting diets after weaning

One hundred and twenty-eight 19 day old males were weighed, measured, randomly assigned to experimental groups and housed in groups of eight in plastic breeding cages. Food and deionized water were also given *ad libitum*.

Animal Husbandry

Sprague Dawley rats⁷ of the CD strain were used in these experiments. Animals were housed under controlled humidity (50-55%) and temperature (72°F ± 2°F), with equal hours of light and darkness.

Animals were weighed in a Torbal Balance and measured as described by Hughes and Tanner (15) from the day of arrival and throughout the entire period on a twice-a-week basis up to 35 days of age, then weekly thereafter. All animals were observed daily for condition of skin, hair and tail.

Microbiological Assays

To reduce the experimental period, animals were inoculated with a pure culture of *S. mutans*. Prior to inoculation, two animals from each experimental group were randomly chosen and sampled by swabbing the animal's mouth with a wood cotton-tipped sterile swab. The swab was placed in a 0.85% NaCl solution, mixed, and serially diluted to two appropriate dilutions (10¹ and 10²). The dilutions were plated on Blood Agar and on selective media [(Mitis Salivarius Agar (MSA) and Mitis Salivarius Agar + Bacitracin (MSB)] for isolation of streptococci.

At the same time, the animals to be challenged were infected with a pure culture of *S. mutans* I.B. 1600 for three consecutive days. The inoculum was also added to the water for the three days. At the end of the inoculation period animals were placed on suspended stainless steel cages, two per cage. The implantation of *S. mutans* was checked by swabbing animals at the end of the first and fourth weeks and the day before sacrifice, and plating on Mitis Salivarius Agar (MSA) plus Streptomycin sulfate.

Protein Determination of Saliva

Saliva was collected following the technique described by Menaker and Navia (16) and protein was determined according to the modified method of Lowry *et al.* (17).

⁷ Charles River Breeding Laboratories, Wilmington, Mass., USA.

Morphometric Analysis

All animals were sacrificed by guillotine. Vital organs including brain, lungs, heart, kidneys, adrenals, liver, thymus, spleen, parotid and submandibular glands were weighed in a Mettler H-10 analytical balance⁸ and fixed in 10% neutral buffered (NBF) formalin solution for histopathology.

Skulls were fixed in a 10% NBF washed thoroughly with running water and placed in the autoclave for 15 min at 15 psi. The jaws were removed, cleaned and weighed in an analytical balance. The right half of the mandible was radiographed using an X-Ray machine⁹, with the cone approximately 1" from the specimen. The exposed radiographed mandible was used to measure anatomical landmarks following the description of Bunyard (18).

Intact teeth were removed from jaws according to the technique of Navia *et al.* (19), using a ficin solution. The maxillae and mandible were placed in the ficin solution, in individual 10 ml beakers. Upper right first molars were measured directly with an INOX Dial Caliper accurate to 0.1 mm. Both mesiodistal and buccolingual diameters were determined and the length from tip of mesial cusp to the end of the root.

Mandibles with teeth, teeth alone, upper incisor teeth, upper first molars and upper second molars were weighed in an analytical balance. Pigmentation of the incisor teeth was assessed either as normal (orange color), partly depigmented or completely white (18).

Caries Scores

Mandibular caries were scored according to the method described by Keyes (20). To obtain a better delineation of the extent of involvement of the carious process, mandibles were stained with Murexide (21).

Determination of Hemoglobin and Hematocrit

Because of the low content of iron in the NIH 2000 diet, hemoglobin and hematocrit were assayed. Heparinized micro-

⁸ Mettler Corp., Highstown, N.J., USA.

⁹ Ritter Model G, 65 KVP, 10 ma and 1/10 sec.

hematocrit capillary tubes were used to collect blood samples from the retro-orbital venous plexus of etherized adult rats. Samples were centrifuged for 15 min at 2700 rpm and read on an international micro-capillary reader. Hemoglobin concentration was determined by removing 0.02 ml of blood from the retro-orbital venous plexus of etherized adult rats and mixing immediately with 5 ml of Hycel cyanomethemoglobin reagent.

Statistical Analysis

The comparisons of the three groups were analyzed using the F test. If there was a statistically significant F value ($p \leq 0.05$), an *a posteriori* test, based on multiple comparisons among means of equal sample sizes was applied (Student-Newman-Keuls test) to determine which groups differed statistically from each other. With both tests, a $p \leq 0.05$ was considered to be significant (22).

RESULTS

The principle purpose of this work was to determine whether two frequently used caries-promoting diets were nutritionally adequate to support growth in the young rat and maintenance in the adult rat when compared to a diet that satisfies the requirements established by the NRC. By analysis, it was determined that the caloric density of diet MIT 200 was lower than that recommended by the NRC standards, due to its lower fat content. In addition to being hypocaloric, NIH 2000 was also deficient in other essential nutrients, particularly iron (Table 3).

Enumeration of organisms obtained by oral swab from animals on the various diets revealed a difference in the counts of bacteria on MSA (4.9×10^3 colonies/ml of saline, NIH 2000; 4.6×10^3 , MIT 200; and 4.3×10^3 , control). The effect was due probably to the increase in the number of streptococci associated with increased carbohydrate in the diet. A similar difference was also observed on MSB (1.5×10^3 colonies/ml of saline, NIH 2000; 1.3×10^3 , MIT 200; and 1.0×10^3 , control), a medium favoring the growth of *S. mutans* with increased carbohydrate availability. Therefore, these results suggest that there is less *S. mutans* in animals fed the control diet and more in those fed NIH 2000 (Figure 1).

The inoculation of animals at day 19 with labeled *S. mutans*

TABLE 3
COMPOSITION OF EXPERIMENTAL DIETS

Nutrient	Control	MIT 200	NIH 2000	NRC
Protein	25.0	20.0	14.0	12.0 o/o
CHO	51.9	67.0	78.4	o/o
Fat	15.0	3.0	0.8	5.0 o/o
Ca	4.7	3.42	4.4	0.5 o/o
Cu	24.0	10.5	5.8	5.0 mg/kg
I	0.12	0.87	—	0.15 mg/kg
Fe	45.6	33.0	16.0	35.0 mg/kg
Mg	0.39	0.35	0.09	0.04o/o
Mn	38.0	51.0	54.0	50.0 mg/kg
P	3.12	2.65	3.93	0.4 o/o
K	0.393	0.223	0.568	0.18o/o
Na	0.377	0.260	0.956	0.05o/o
Zn	36.0	41.7	17.2	12.0 mg/kg
Biotin	0.5	0.1	0.13	mg/kg
Choline	4000.0	3000.0	449.0	750.0 mg/kg
Folate	2.0	2.0	1.24	mg/kg
Niacin	50.0	20.0	29.9	15.0 mg/kg
Pantothenic acid	50.0	30.0	14.1	8.0 mg/kg
Pro-vit A	1.0	3.6	3.13	0.6 mg/ret/kg
Piridoxine	10.0	3.0	2.46	7.0 mg/kg
Riboflavin	2.0	6.0	8.37	2.5 mg/kg
Thiamine	1.0	0.8	1.6	1.25 mg/kg
B ₁₂	5.0	3.0	1.79	0.005 mg/kg
Vit E	40.0	50.0	27.0	35.0 mg/kg
Vit K	0.5	0.3	—	0.05 mg/kg
Vit D	1000.0	4000.0	1080.0	1000.0 I.U./kg
Vit C	20.0	100.0	20.0	mg/kg

(I.B. 1600, streptomycetes resistance strain) did not affect the nutritional status of the animal. This was confirmed by the fact that no difference between inoculated and non-inoculated animals in final weights and weight of organs upon autopsy was detected (Tables 4 and 5). The only observed difference was in the caries scores (Table 6).

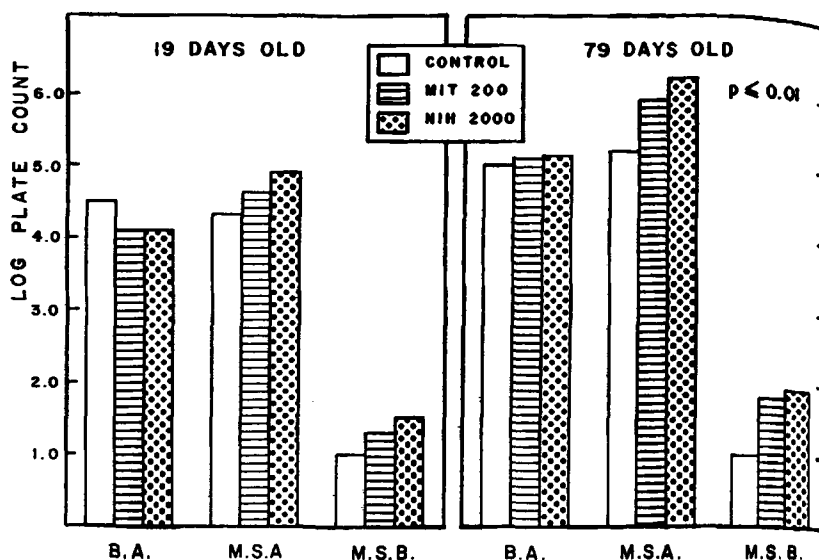


FIGURE 1

Relative counts of bacterial sampling from male albino rats on B.A., M.S.A., and M.S.B. at 19 and 79 days of age

Measuring growth by weight gain of the animal revealed that both NIH 2000 and MIT 200 caries-promoting diets, under the experimental conditions used, did not sustain growth at a rate comparable to animals fed the control diets.

Weight as a measure of growth of the animal revealed that caries-promoting diet MIT 200 supports growth comparable to that of the control until approximately 5-6 weeks of feeding, when growth of animals fed this diet falls off the growth curve of the control animals. Diet NIH 2000 did not support growth when compared to the control at any time during the study (Figures 2-4). No differences in food intake were observed among the various groups until the sixth week after birth when the animals fed the NIH 2000 started to lose their appetite.

The appearance of the fur was normal for the control group and those fed the MIT 200, but the NIH 2000 group started to

TABLE 4

FINAL BODY AND ORGAN WEIGHTS OF 60 DAYS POST-WEANING MALE ALBINO RATS

	Control	MIT 200	NIH 2000
B. W.	<u>377.88 ± 31.30</u>	<u>325.75 ± 43.78</u>	259.63 ± 26.20 ¹
Heart	<u>1.22 ± 0.11</u>	<u>0.98 ± 0.10</u>	1.00 ± 0.11
Lungs	<u>1.75 ± 0.28</u>	<u>1.53 ± 0.32</u>	1.63 ± 0.14
Kidney	<u>1.52 ± 0.13</u>	<u>1.20 ± 0.19¹</u>	0.95 ± 0.13 ²
Liver	<u>15.93 ± 2.36</u>	<u>12.98 ± 2.82</u>	8.90 ± 1.11 ²
Spleen	<u>0.90 ± 0.37</u>	<u>0.54 ± 0.10</u>	0.55 ± 0.07
Adrenals	<u>0.0512 ± 0.0067</u>	<u>0.0387 ± 0.0082</u>	0.0365 ± 0.0063
Brain	<u>1.88 ± 0.10</u>	<u>1.77 ± 0.10</u>	1.78 ± 0.09
Thymus	<u>0.66 ± 0.13</u>	<u>0.44 ± 0.13</u>	0.49 ± 0.10
Submand. glands	<u>0.60 ± 0.15</u>	<u>0.55 ± 0.04</u>	0.45 ± 0.07
Parotid glands	<u>0.23 ± 0.05</u>	<u>0.18 ± 0.03</u>	0.17 ± 0.02

The underlines joining the groups denote that these treatments have not been shown to be significant ($p < 0.05$).

1 $p < 0.05$.

2 $p < 0.01$.

TABLE 5

FINAL BODY AND ORGAN WEIGHTS OF 60 DAYS POST-WEANING MALE ALBINO RATS¹

	Control	MIT 200	NIH 2000
B. W.	341.63 ± 41.17	344.25 ± 34.42	261.88 ± 34.04 ²
Heart	1.19 ± 0.11	1.14 ± 0.12	1.14 ± 0.11
Lungs	2.06 ± 0.48	1.84 ± 0.24	1.87 ± 0.40
Kidney	1.41 ± 0.24	1.37 ± 0.13	1.01 ± 0.10 ²
Liver	12.17 ± 3.00	12.64 ± 2.46	8.96 ± 1.27
Spleen	0.69 ± 0.13	0.67 ± 0.12	0.54 ± 0.08
Adrenals	0.0420 ± 0.0130	0.0484 ± 0.0127	0.0318 ± 0.0052
Brain	1.89 ± 0.12	1.90 ± 0.07	1.83 ± 0.07
Thymus	0.64 ± 0.12	0.69 ± 0.18	0.52 ± 0.10
Submand. glands	0.55 ± 0.12	0.59 ± 0.08	0.52 ± 0.08
Parotid glands	0.24 ± 0.04	0.23 ± 0.03	0.16 ± 0.05

The underlines joining the groups denote that these treatments have not been shown to be significant ($p < 0.05$).

¹ Inoculated.

² $p < 0.01$.

TABLE 6
COMBINED AVERAGE CARIES SCORES FOR ALL LESIONS
(BUCCAL + SULCAL + PROXIMAL)¹

Lesion ²	Control	MIT 200	NIH 2000
<i>Weaning</i>			
E	0.1 (3.9)	6.7 ³ (10.0)	11.7 ³ (16.6)
D _s	0	2.7	6.8 ³
	1.4	5.2 ⁴	10.8 ³
D _m	0	0.3	1.5 ⁴
	(0)	(0.3)	(7.4)
<i>Lactation</i>			
E	1.3	5.4 ⁴	15.2 ³
D _s	0	1.9	8.6 ³
D _m	0	0	6.7 ³

The underlines joining the groups denote that these treatments have not been shown to be significant ($p < 0.05$).

1 The numbers in parentheses are scores for inoculated animals.

2 E = enamel only; D_s = slight dental and D_m = moderate dental.

3 $p < 0.01$.

4 $p < 0.05$.

show skin lesions with specific areas of alopecia on the dorsal side of the neck and skin of the tail slightly to moderately scaled. This condition was evident in all developmental groups (pregnancy, lactation, and post weaning).

Analysis of stimulated salivary volume during a fixed period of time revealed a significant difference ($p \leq 0.01$) between controls and NIH 2000 in post-weaning animals at both ages. For MIT 200, the only significant difference was found in the post-weaning period ($p \leq 0.05$) at 79 days of age. If diets were

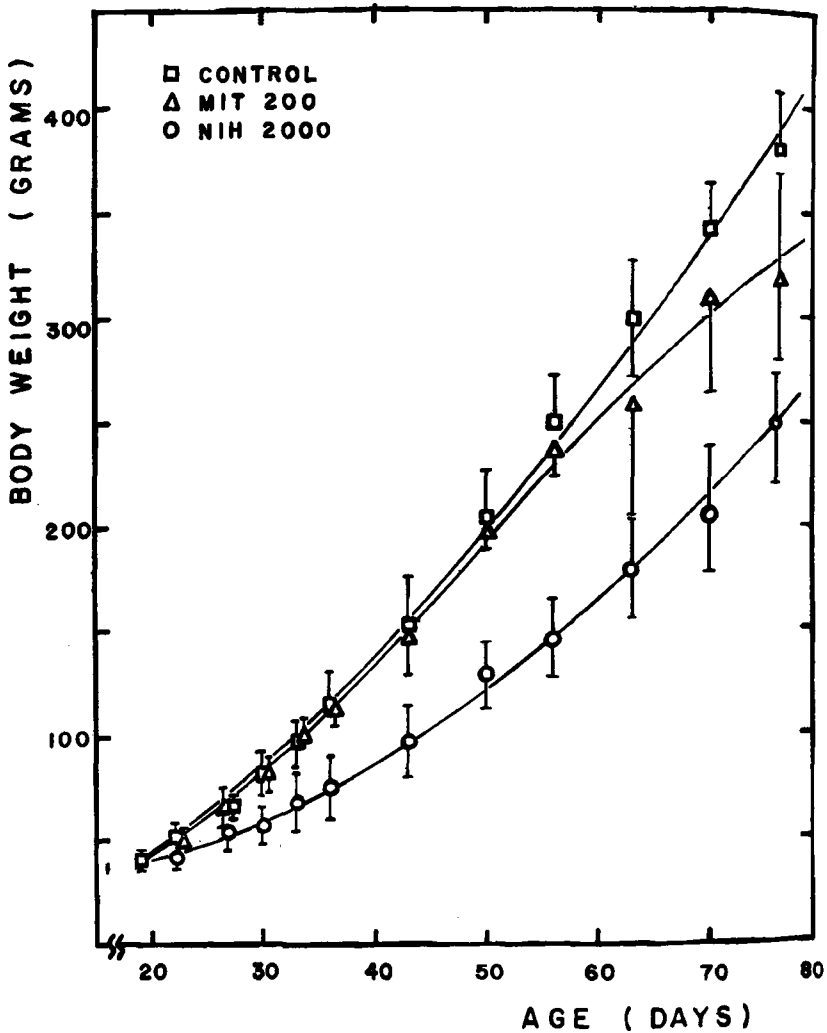


FIGURE 2

Growth of male albino rats fed a caries-promoting diet post-weaning

introduced during the suckling period there was no significant difference at both ages (Table 7). The salivary protein content differed in groups fed either MIT 200 and NIH 2000 when

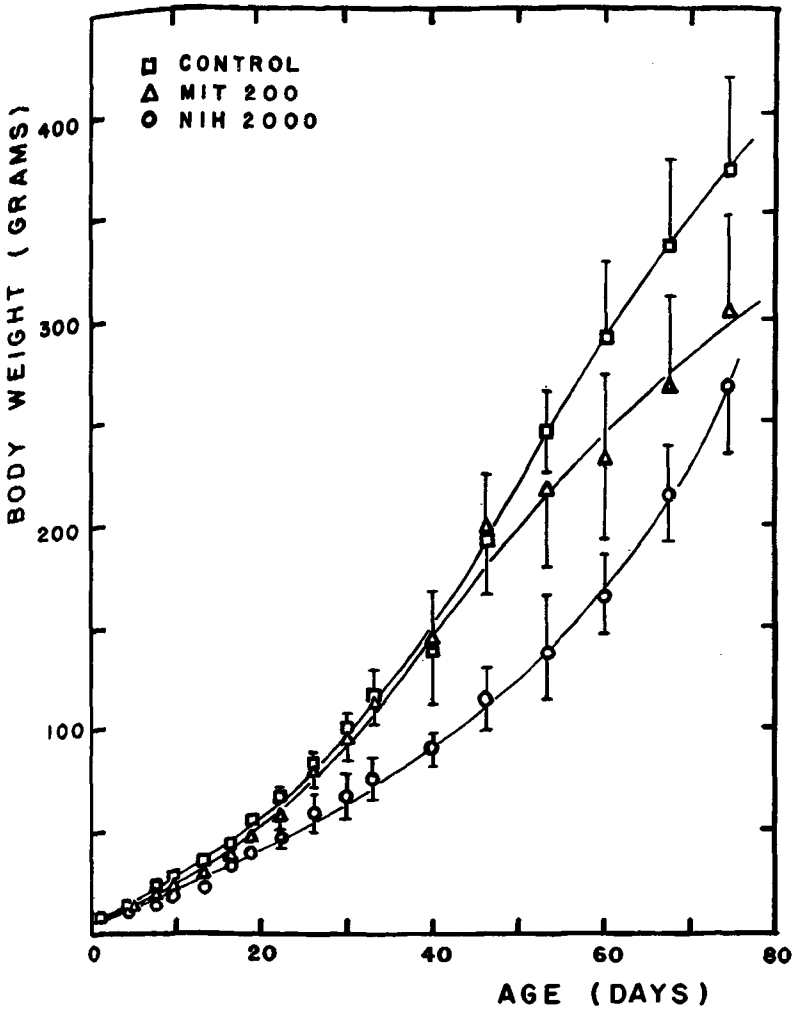


FIGURE 3

Growth curves of male albino rats fed a caries-promoting diet during lactation and weaning

compared to controls, especially when diets were introduced during the suckling period (Table 8).

Upon autopsy the weight of several organs was compared to those of the control group (Table 4). In the animals fed the NIH

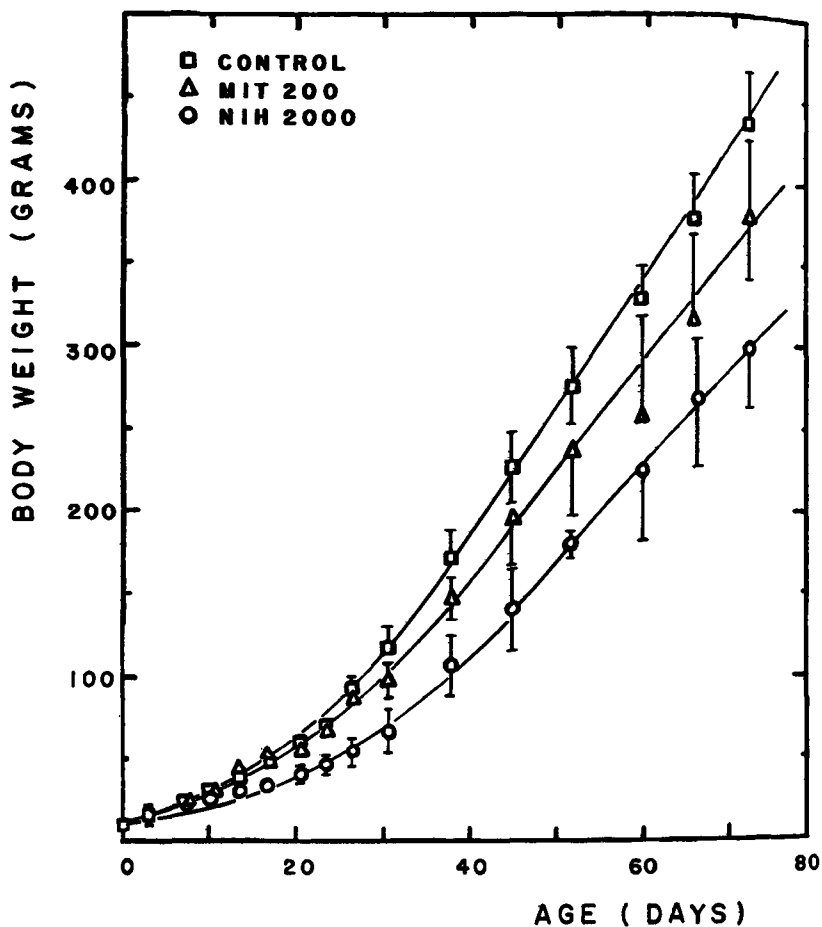


FIGURE 4

Growth curves of male albino rats fed a caries-promoting diet pre-natally, and during lactation and weaning

2000 diet, the weight of the heart, expressed as per cent body weight, increased (Table 9). Examination of the heart revealed hypertrophy of the left ventricle and dilation mainly of the right side. This pathology was present in animals as young as 59 days old (post-weaning group). Upon examination under the light microscope, no morphological changes between the control diet

TABLE 7

STIMULATED SALIVARY VOLUME PER RAT DURING A FIFTEEN
MINUTE PERIOD

Age (days)	Control (ml/rat)	MIT 200 (ml/rat)	NIH 2000 (ml/rat)
<i>Weaning</i>			
59	<u>0.75 ± 0.08</u>	<u>0.71 ± 0.11</u>	0.40 ± 0.09 ¹
79	1.39 ± 0.09	<u>1.12 ± 0.10²</u>	0.88 ± 0.12 ¹
<i>Lactation and Weaning</i>			
59	<u>0.89 ± 0.11</u>	<u>0.88 ± 0.16</u>	0.85 ± 0.23
79	<u>1.16 ± 0.04</u>	<u>1.10 ± 0.04</u>	1.11 ± 0.03

The underlines joining the groups denote that these treatments have not been shown to be significant ($p < 0.05$).

¹ $p < 0.01$.

² $p < 0.05$.

and experimental diet NIH 2000 were observed in the following tissues and organs: bone, muscle, liver, heart and spleen.

The mandibular X-rays were examined and measured for anatomical landmarks. Differences were observed in all parameters between control and the NIH 2000, except for the combined mesio-distal length of first and second molars.

The size of the first upper molar of the animals fed NIH 2000 for the post-weaning group did not differ from that of the controls. This was expected, for these teeth were already formed when the animals were exposed to the diets.

There was no difference in weight of mandible, the extracted teeth of the mandible, the upper incisors, upper first molars and upper second molars at 40 days in the post-weaning group, but there was a significant difference at 60 days for all parameters measured.

Inspection of the color of the teeth revealed that the normal

TABLE 8

SALIVARY PROTEIN CONTENT IN A FIFTEEN MINUTE PERIOD

Age (days)	Control (mg o/o)	MIT 200 (mg o/o)	NIH 2000 (mg o/o)
<i>Weaning</i>			
59	426.0 ± 6.1	445.0 ± 5.6 ¹	522.0 ± 3.7 ²
79	490.0 ± 9.4	499.0 ± 9.2	491.0 ± 4.5
<i>Lactation and Weaning</i>			
59	599.0 ± 7.9	445.0 ± 5.4 ²	481.0 ± 8.0 ²
79	551.0 ± 4.2	477.0 ± 2.2 ²	472.0 ± 3.2 ²

The underlines joining the groups denote that these treatments have not been shown to be significant ($p < 0.05$).

¹ $p < 0.05$.

² $p < 0.01$.

orange pigmentation of the incisors was present at the end of both periods in all developmental stages and in all experimental groups with the exception of teeth from animals fed NIH 2000. In these, the pigment was absent at all stages; thus, the teeth were totally white or partially white.

The caries scores were lower in animals fed the control diet when compared to those fed NIH 2000. It is interesting to note that there were more smooth caries lesions in animals fed the NIH 2000 diet than in the other groups. This area was still immature when the molars erupted and, at that point, the animals were stressed not only with weaning but also with super inoculation as well as exposure to the caries-promoting diets. As stated previously, there was also a difference between the caries scores of the non-inoculated and the inoculated groups (Table 6).

Because of the low content of iron in the NIH 2000 diet (16 mg/kg of diet), hemoglobin and hematocrit were assayed. There was a decrease in the hemoglobin and the hematocrit of the NIH 2000 as compared to the control in all experimental periods (Table 10).

TABLE 9

FINAL WEIGHT OF ORGANS PER 100 g OF BODY WEIGHT OF 40 DAYS POST-WEANING MALE
ALBINO RATS

	Control	MIT 200	NIH 2000
B. W.	<u>252.25 ± 18.58</u>	<u>238.25 ± 16.94</u>	163.00 ± 16.37 ¹
Heart	<u>0.38 ± 0.03</u>	0.33 ± 0.04 ²	<u>0.54 ± 0.18</u>
Lungs	<u>0.57 ± 0.13</u>	<u>0.53 ± 0.04</u>	<u>0.70 ± 0.19</u>
Kidney	<u>0.48 ± 0.02</u>	<u>0.41 ± 0.04</u>	<u>0.42 ± 0.04</u>
Liver	<u>4.86 ± 0.41</u>	<u>4.87 ± 1.08</u>	<u>0.30 ± 0.61</u>
Spleen	<u>0.32 ± 0.07</u>	<u>0.24 ± 0.06</u>	<u>0.30 ± 0.10</u>
Adrenals	<u>0.015 ± 0.003</u>	<u>0.013 ± 0.002</u>	<u>0.018 ± 0.006</u>
Brain	<u>0.73 ± 0.06</u>	<u>0.75 ± 0.05</u>	1.04 ± 0.09 ¹
Thymus	<u>0.29 ± 0.08</u>	<u>0.26 ± 0.08</u>	<u>0.22 ± 0.05</u>
Submand. glands	<u>0.10 ± 0.02</u>	<u>0.11 ± 0.03</u>	<u>0.12 ± 0.01</u>
Parotid glands	<u>0.05 ± 0.01</u>	<u>0.04 ± 0.01</u>	<u>0.03 ± 0.01</u>

The underlines joining the groups denote that these treatments have not been shown to be significant ($p < 0.05$).

¹ $p < 0.01$.

² $p < 0.05$.

TABLE 10

**HEMOGLOBIN AND HEMATOCRIT OF MALE ALBINO RATS
EXPOSED TO DIETS DURING DIFFERENT DEVELOPMENTAL
PERIODS^{1,2}**

		Control	MIT 200	NIH 2000
<i>40 days</i>				
Hematocrit (o/o)	W	<u>45.5 ± 2.9</u>	<u>42.7 ± 4.0</u>	39.8 ± 2.9 ³
	L	<u>44.0 ± 2.6</u>	<u>42.2 ± 2.6</u>	39.5 ± 1.7 ³
	P	<u>51.7 ± 2.9</u>	<u>48.2 ± 0.8</u>	36.9 ± 2.2 ⁴
Hemoglobin (g o/o)	W	<u>14.3 ± 2.1</u>	<u>13.5 ± 0.5</u>	10.8 ± 1.4 ³
	L	<u>14.4 ± 1.4</u>	<u>13.4 ± 2.1</u>	11.9 ± 0.6 ³
	P	<u>15.9 ± 1.0</u>	<u>14.6 ± 1.0</u>	10.7 ± 0.4 ⁴
<i>60 days</i>				
Hematocrit (o/o)	W	<u>48.2 ± 1.0</u>	<u>48.0 ± 0.0</u>	40.0 ± 3.0 ⁴
	L	<u>50.1 ± 1.9</u>	<u>47.0 ± 0.6</u>	41.2 ± 1.7 ⁴
	P	<u>51.8 ± 1.7</u>	<u>50.0 ± 1.9</u>	40.5 ± 3.0 ⁴
Hemoglobin (g o/o)	W	<u>14.4 ± 1.0</u>	<u>14.3 ± 0.6</u>	11.0 ± 2.9 ⁴
	L	<u>15.6 ± 1.0</u>	<u>14.5 ± 0.6</u>	12.4 ± 0.6 ⁴
	P	<u>16.5 ± 0.8</u>	<u>15.8 ± 1.0</u>	12.5 ± 0.4 ⁴

1 W = post-weaning; L = lactation; P = pre-natally.

2 The underlines joining the groups denote that these treatments have not been shown to be significant ($p < 0.05$).

3 $p < 0.05$.

4 $p < 0.01$.

DISCUSSION

The caloric density for both experimental diets was found to be lower than that recommended by the NRC standards for the

rat. This was due to the low fat content of the caries-promoting diets. Final examination of weight gains revealed that under the experimental conditions used, both caries-promoting diets did not sustain growth of rats at a rate comparable to those fed the control diets. It is possible that the factor restricting rat growth in these experiments was the level of dietary fat. This is critical, for it is at this time that the animal is reaching maturity, and suggests that the higher caloric need of this age is not met by the diets studied.

Menaker and Navia (4) have shown that caries susceptibility in the rat can be increased by inflicting marginal protein malnutrition during tooth development. One mechanism suggested was based on changes in salivary gland development and function. Malnutrition imposed on rats during the suckling period produced diminished protein synthetic and secretory capacity of the salivary glands. Under these conditions, rats challenged after weaning with a caries-promoting diet have higher caries scores than rats fed adequately during this period.

The reduced salivary volume in both age groups fed the NIH 2000 diet is evidence that changes which occurred in these glands may be the result of a marginal nutrient deficiency.

Iron deficiency is probably the most frequent single nutritional deficit encountered in both industrialized and underdeveloped countries, while iron deficiency anemia is the most common type of anemia observed. The incidence of this anemia may be as high as 30% in certain high risk groups such as children and women of child-bearing age. In addition, recent findings indicate that iron deficiency may be more common than is generally recognized in apparently healthy young men (23).

The principal causes of iron depletion are related to chronic blood loss, increased physiologic demands of iron, or intestinal malabsorption syndromes. Ultimately, most of these cases are the result of, or complicated by, diets containing inadequate iron. When body iron stores are depleted, anemia develops. Since it occurs as a late manifestation of iron deficit, the incidence of latent iron deficiency is undoubtedly quite high throughout the world.

Iron deficiency is associated with differences in weight and, consequently, blood volume of the animals. These differences may result from the adverse effects of the deficiency on metabolism (24). Iron is required by every cell; thus, presumably any cell may suffer as a consequence of iron deficiency. Dermal

changes are easy to observe in some patients with severe iron deficiency as well as blood losses (25).

Since hemoglobin deficiency *per se* does not appear to be a reasonable candidate for the role of biochemical mediator in functional disturbances, enzymes and metabolic pathways known to require iron in some form for normal function have also been identified. It has been possible to demonstrate deficiencies in some of these enzymes or pathways in iron-deficient animals and in man, i.e., proto-collagen proline hydroxylase (26). This enzyme is reduced in activity in rat periodontal membrane and in other rat tissues during iron deficiency (27). Moreover, buccal mucosa, with an extremely rapid turnover, is both more sensitive to depletion and more quickly responsive to repletion than a tissue such as skeletal muscle.

Further support for a role for iron deficiency in the effects observed when diet 2000 was fed, is found when the changes in tooth pigmentation are considered. Pigmentation on rat enamel is generally believed to be a function of iron availability (28-31).

The studies of Menaker and Navia (5) demonstrated that marginal protein deficiency can produce increased susceptibility of the tooth to caries in the rat. There appears to be a close connection between increased caries incidence and iron deficiency as evidenced by results with diet NIH 2000.

Final evidence for iron deficiency playing a role in cariogenesis on diet NIH 2000 is obtained from the refeeding experiments which are discussed in another publication. Animals fed diet NIH 2000 supplemented with iron from the beginning of the experiments had lower caries scores especially in the buccal surfaces.

RESUMEN

CRECIMIENTO, DESARROLLO Y CARIES DENTAL EN RATAS ALIMENTADAS CON DOS DIETAS EXPERIMENTALES

Se proporcionaron las dietas MIT 200 y NIH 2000 a dos grupos de animales experimentales con el fin de determinar su adecuación nutricional en relación al crecimiento y desarrollo de las ratas. Estas dietas se les administraron a dos grupos de animales durante tres períodos de desarrollo: 1) preñez; 2) lactancia, y 3) post-destete. Luego se compararon con otra dieta que se ajustaba a los requerimientos para crecimiento y mantenimiento

establecidos por el Consejo Nacional de Investigaciones de los Estados Unidos. Se encontró en ambos casos, que debido a su déficit calórico el crecimiento era afectado por las dos dietas experimentales. Además, la dieta NIH 2000 era deficiente en otros nutrientes, hierro, por ejemplo. El análisis de otros parámetros tales como hemoglobina, hematocrito, proteína salivar, flujo salivar y peso de los órganos vitales al momento de la autopsia, reveló un cuadro de deficiencia de hierro en el grupo alimentado con NIH 2000. La formación de caries puede ser precipitada mediante un mecanismo que es influenciado por el déficit de un nutriente.

ACKNOWLEDGEMENTS

The senior author is thankful for the assistance and advice of Drs. Lor Cury, Juan Navia, Paul Newberne, Abraham Nizel and Robert Suskind. In addition, for the technical assistance received from John Dos Passos.

BIBLIOGRAPHY

1. Navia, J., L. DiOrío, L. Menaker & S. Miller. Effect of undernutrition during the perinatal period on caries development in the rat. *J. Dent. Res.*, **49**: 1091-1098, 1970.
2. Shaw, J. H. & D. Griffiths. Dental abnormalities in rats due to low protein diets. *J. Nutr.*, **80**: 123, 1963.
3. Menaker, L. & J. Navia. Effect of undernutrition during the perinatal period on caries development in the rat. II. Caries susceptibility in underfed rats supplemented with protein or calories during the suckling period. *J. Dent. Res.*, **52**: 680-687, 1973.
4. Menaker, L. & J. Navia. Effect of undernutrition during the perinatal period on caries development in the rat. III. Effects of undernutrition on biochemical parameters in the developing submandibular gland. *J. Dent. Res.*, **52**: 688-691, 1973.
5. Menaker, L. & J. Navia. Effect of undernutrition during the perinatal period on caries development in the rat. IV. Effects of differential tooth eruption and exposure to a cariogenic diet on subsequent dental caries development in the rat. *J. Dent. Res.*, **52**: 696-697, 1973.
6. Gaunt, W. & J. Irving. Influence of dietary calcium and phosphorus upon tooth formation. *J. Physiol.*, **99**: 18-29, 1940.
7. Wesson, L. & P. Boyle. Utilization of calcium by rats on high protein-low calcium and high carbohydrate-low calcium diets. *Arch. Pathol.*,

- 36: 237-243, 1943.
8. Sobel, A. & A. Hanok. Calcification of teeth. I. Composition in relation to blood and lymph. *J. Biol. Chem.*, **176**: 1103, 1948.
 9. Hartles, R. The effect of a high sucrose diet on the calcium and phosphorus content of the enamel and dentine of rat incisors. *Biochem. J.*, **48**: 245, 1951.
 10. Schour, I. & M. Massler. The effect of dietary deficiencies upon the oral structures. *Physiol. Rev.*, **25**: 442, 1945.
 11. Jenkins, G. The influence of diet on the oral structures. In: *The Physiology of the Mouth*. Oxford, Blackwell Scientific Publications, 1960, p. 164-217.
 12. Schour, I. & M. Massler. The teeth. In: *The Rat in Laboratory Investigation*. J. Griffith & E. Farris (Eds.). Philadelphia, Pa., J. B. Lippincott Co., 1942, p. 102-157.
 13. Smith, M. & E. Lantz. Changes in the incisors of albino rats accompanying a deficiency of vitamin A. *J. Home Econ.*, **25**: 5, 1933.
 14. Ismail-Beigi, F., B. Faraji & J. Reinhold. Binding of zinc and iron to wheat bread, wheat bran and their components. *Am. J. Clin. Nutr.*, **30**: 1721-1725, 1977.
 15. Hughes, P. & J. Tanner. A longitudinal study of the growth of the black-hooded rat: methods of measurement and rates of growth for skull, limbs, pelvis, nose, rump and tail lengths. *J. Anat.*, **2**: 349-370, 1970.
 16. Menaker, L. & J. Navia. Effect of undernutrition during the perinatal period on caries development in the rat. V. Changes in whole saliva volume and protein content. *J. Dent. Res.*, **53**: 592-597, 1974.
 17. Lowry, O., N. Rosebrough, A. Farr & R. Randall. Protein measurement with folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, **193**: 256-275, 1951.
 18. Bunyard, M. Effects of high sucrose cariogenic diets with varied protein calorie levels on the bones and teeth of the rat. *Calc. Tiss. Res.*, **8**: 217-227, 1971.
 19. Navia, J., R. Harris, A. Nizel & J. Moor. Technique for removal of intact teeth from jaws of experimental animals. *J. Dent. Res.*, **42**: 1251, 1963.
 20. Keyes, P. Dental caries in the molar teeth of rats. II. A method for diagnosing and scoring several types of lesions simultaneously. *J. Dent. Res.*, **37**: 1088, 1958.
 21. Losee, F. Adding color for better visualization of dentinal caries. *Dental Progress*, **3**: 280-283, 1963.
 22. Sokal, R. & F. Rohlf. Single classification analysis of variance. In: *Biometry*. San Francisco, Calif., W. H. Freeman & Co., 1969, p. 204-252.

23. Ragan, H. Effects of iron deficiency on the absorption and distribution of lead and cadmium in rats. *J. Lab. Clin. Med.*, **90**: 700-706, 1977.
24. Kirchgessner, M., H. Roth, R. Spoerl, A. Schnegg, R. Rellner & E. Weigand. A comparative view on trace elements and growth. *Nutr. Metab.*, **21**: 119-143, 1977.
25. Crosby, W. Current concepts on nutrition. Who needs iron? *N. E. J. Med.*, **297**: 543-545, 1977.
26. Leibel, R. A review: behavioral and biochemical correlates of iron deficiency. *J. Am. Dietet. Assoc.*, **71**: 398-404, 1977.
27. Sperber, R. **The Effect of Prewaning Iron Deficiency and Subsequent Rehabilitation on Barrier Function of Mucosal Epithelium.** Ph.D. Thesis, M.I.T., Cambridge, Mass., USA, 1977.
28. Dam, H. & H. Granados. Role of unsaturated fatty acids in changes of adipose and dental tissues in vitamin E deficiency. *Science*, **102**: 327-328, 1945.
29. Moore, T. & M. Mitchell. Dental depigmentation and lowered content of iron in the incisor teeth of rats deficient in vitamin A or E. *Brit. J. Nutr.*, **9**: 174-180, 1955.
30. Navia J. Effects of minerals on dental caries. In: **Dietary Chemicals vs. Dental Caries.** R. Gould (Ed.). Washington, D. C., American Chemical Society, 1979, p. 123-160.
31. Navia, J. The oral environment in experimental animals: the teeth, structure and composition. In: **Animal Models in Dental Research.** Alabama, The University of Alabama Press, 1977, p. 168-196.

**INFLUENCE OF SUPPLEMENTATION ON THE DENTAL
CARIES INCIDENCE AND GROWTH OF RATS FED TWO
MODEL DIETS^{1,2,3}**

Jorge L. Sintes⁴ and Sanford A. Miller⁵

**Oral Science Laboratories, Department of Nutrition and
Food Science, Massachusetts Institute of Technology,
Cambridge, Mass. 02139, United States of America**

SUMMARY

In order to improve the quality of caries-promoting diets MFT 200 and NIH 2000, both diets were supplemented with fat. In addition, the NIH 2000 diet was supplemented with minerals and vitamins. Supplementation

-
- 1 Contribution No. 3777 of the Department of Nutrition and Food Science, Massachusetts Institute of Technology, Cambridge, Mass. 02139.
 - 2 Supported by the National Institute of Dental Research Grant No. 5-T01-DE00105. Dr. Sintes was supported by a postdoctoral training fellowship provided by the National Institute of Dental Research, National Institutes of Health, Bethesda, Maryland.
 - 3 Presented in part at the American Dental Association, Conference on Foods, Nutrition and Dental Health, Chicago, Ill., October 1978 and at the International Association for Dental Research, New Orleans, La., April 1979; *J. Dent. Res.*, 58, 1326 (abstract).
 - 4 Jorge L. Sintes, Oral Health Research Center, 110 Fuller Place, Hackensack, N. J. 07601, USA.
 - 5 Sanford A. Miller, Food and Drug Administration, Bureau of Foods, 200 C Street, S. W., Washington, D. C. 20204, USA.

with essential nutrients improves the quality of the diets and enhances growth when compared to control animals. Adding minerals and vitamins to diet NIH 2000 abolishes loss of pigmentation of incisors, improves hemoglobin and hematocrit and reduces caries scores in the buccal surfaces by 50% when compared to the non-supplemented diet. It is possible that the cariogenic properties of diet NIH 2000 may be a function in part of a nutrient deficiency.

INTRODUCTION

Previous experiments (1) revealed that under the experimental conditions used, both caries-promoting diets NIH 2000 and MIT 200 did not sustain growth of rats at a rate comparable to those fed control diets. It is possible that the factor restricting rat growth in these experiments was the level of fat in the diet.

In the growing animal, protein accretion is only one of several important metabolic processes. Among others are maintenance of existing tissues and fat deposition. The foremost of these processes is that of maintenance. Storing energy as fat in the tissues is an efficient process. Fat has a very high caloric value, and it is usually deposited with partial replacement of tissue water. At higher intakes, or at a later age when the stimulus to deposit protein as a percentage of daily live weight gain decreases, fat deposition becomes more important. In later stages of growth, energy demands for maintenance increase due to the increasing body weight. The animal's appetite also decreases relative to body weight near maturity. At the same time, fat becomes more and more dominant in the deposited energy stores; near maturity 85%–90% of the energy is deposited as fat, and only 10–15% as protein. It could be said that during growth in man and animals, maintenance metabolism is the most important energy-requiring process (2).

The purpose of this study was to determine if supplementation of caries-promoting diets MIT 200 and NIH 2000 with essential nutrients such as fat (MIT 200) and fat, minerals and vitamins (NIH 2000), improved the growth pattern of animals when compared to controls fed a diet that satisfies the requirements recommended by the National Research Council (NRC).

MATERIALS AND METHODS

Experimental Design

After determining what nutrients were deficient in the NIH 2000 and MIT 200 diets (1), an experiment was designed to determine the effects of specific nutrient supplementation on growth and development of the animals, and its effects on caries experience. The following five diets were evaluated for a 60 day period after weaning:

Group

- A MIT 25% protein diet⁶ (control)
- B MIT 200⁷
- C MIT 200 + 1% cottonseed oil
- D NIH 2000⁷
- E NIH 2000 + 3% corn oil + 3% MIT 200 mineral mix + 1% MIT 200 vitamin mixture

One hundred and twenty 19-day-old male rats were weighed, measured and randomly assigned to experimental groups (24 per group) and housed in groups of eight in plastic breeding cages. Food and deionized water was given *ad libitum*.

Animal Husbandry

Sprague Dawley rats⁸ of the CD strain were used in these experiments. Animals were housed under controlled humidity (50-55%) and temperature (72°F ± 2°F) with equal hours of light and darkness.

Animals were weighed in a Torbal balance and measured as described by Hughes and Tanner (3) from the day of arrival and throughout the entire period on a twice-a-week basis up to 35 days of age then weekly thereafter. All animals were observed daily for condition of skin, hair and tail.

6 Sintes, J. & S. Miller. *Arch. Latinoamer. Nutr.*, 33(2): 283-307, 1983.

7 Sintes, J. & S. Miller. *Arch. Latinoamer. Nutr.*, 33(2): 322-338, 1983.

8 Charles River Breeding Laboratories, Wilmington, Mass.

Inoculation Technique

In order to reduce the experimental period, the animals were challenged on day 19, 20 and 21, with a pure culture of *S. mutans*⁹. The inoculum was also added to the water on those same three days. At the end of the inoculation period animals were placed in suspended stainless steel cages, two per cage. The implantation of *S. mutans* was checked by swabbing the animals at the end of the first and fourth weeks and the day before sacrifice, and plating on Mitis Salivarius Agar (MSA) plus Streptomycin sulfate.

Morphometric Analysis

All animals were sacrificed by guillotine 60 days after weaning. Vital organs, including liver, spleen and heart were weighed in an analytical balance¹⁰ and placed in 10% neutral buffered formalin (NBF) solution for histopathology.

Skulls were fixed in a 10% NBF, washed thoroughly with running water and placed in the autoclave for 15 minutes at 15 psi. The jaws were removed, cleaned and weighed in an analytical balance. Pigmentation of the incisor teeth was assessed during the entire experiment either as normal (orange color), partly depigmented, or completely white (4).

Caries Score

Mandibular caries were scored according to the method described by Keyes (5). In order to have a better delineation of the extent of involvement of the carious process, mandibles were stained with murexide (6).

Determination of Hemoglobin and Hematocrit

Heparinized microhematocrit capillary tubes were used to collect blood samples from the retro-orbital venous plexus of

⁹ Ingbritt 1600, Streptomyces resistant strain, Forsyth Dental Center, Boston, Mass.

¹⁰ Mettler Corp., Highstown, N. J.

etherized adult rats. Samples were centrifuged for 15 min at 2700 rpm and read on an international micro-capillary reader. Hemoglobin concentration was determined by removing 0.02 ml of blood from the retro-orbital venous plexus of etherized adult rats and mixing immediately with 5 ml of Hycel cyanomethemoglobin reagent.

Statistical Analysis

The comparisons of the five groups were analyzed using the F test. If there was a statistically significant F value ($p \leq 0.05$), an *a posteriori* test, based on multiple comparisons among means of equal sample sizes, was applied (Student-Newman-Keuls test) to determine which groups were statistically different from each other. With both tests, a $p \leq 0.05$ was considered to be significant (7).

RESULTS

Supplementation of MIT 200 diet with or without 10/o fat revealed a growth pattern similar to that of the controls. Both weight and length curves compared with those of the controls that were fed a diet that satisfied the requirements for growth and maintenance (Figures 1, 2, 3). Body weight and organ weights upon autopsy revealed no significant statistical difference when compared to controls (Table 1). There was a significant difference in caries scores particularly with respect to depth of the sulcal lesions. The supplemented group extended far beyond that of the control or the non-supplemented groups (Table 2).

Supplementation of the NIH 2000 diet with 30/o fat, 30/o mineral and 10/o vitamin mixture, revealed a better growth pattern than that of the non-supplemented group but still significantly lower than that of the controls or the supplemented MIT 200 diet (Figures 1, 2, 3). Body weight and liver weight revealed a significant difference when compared to controls and MIT 200. No differences were observed in weight of heart and spleen (Table 1).

Supplementation of diet NIH 2000 also improves hemoglobin and hematocrit. For example, hemoglobin values of 12.2 g/o (NIH 2000), 14.7 g/o (NIH 2000 + supplements) and 15.2 g o/o (controls) (Table 3) were obtained after supplementation.

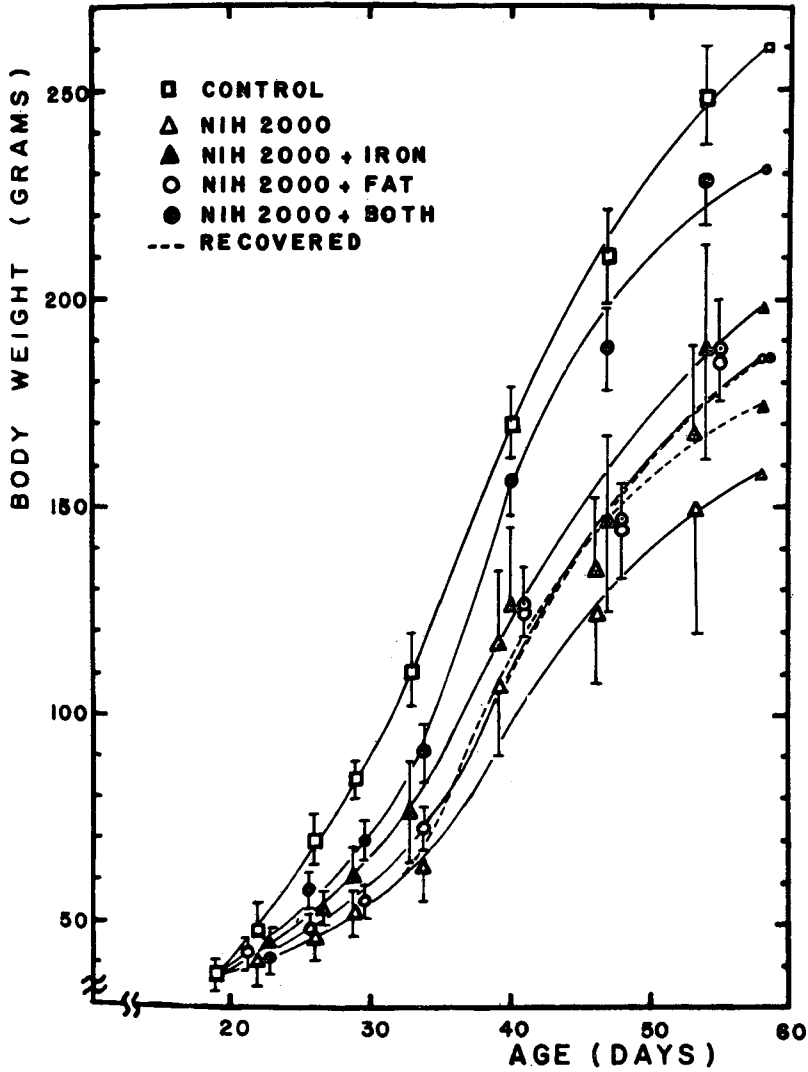


FIGURE 1

Growth curves of male albino rats fed a caries-promoting diet supplemented with essential nutrients

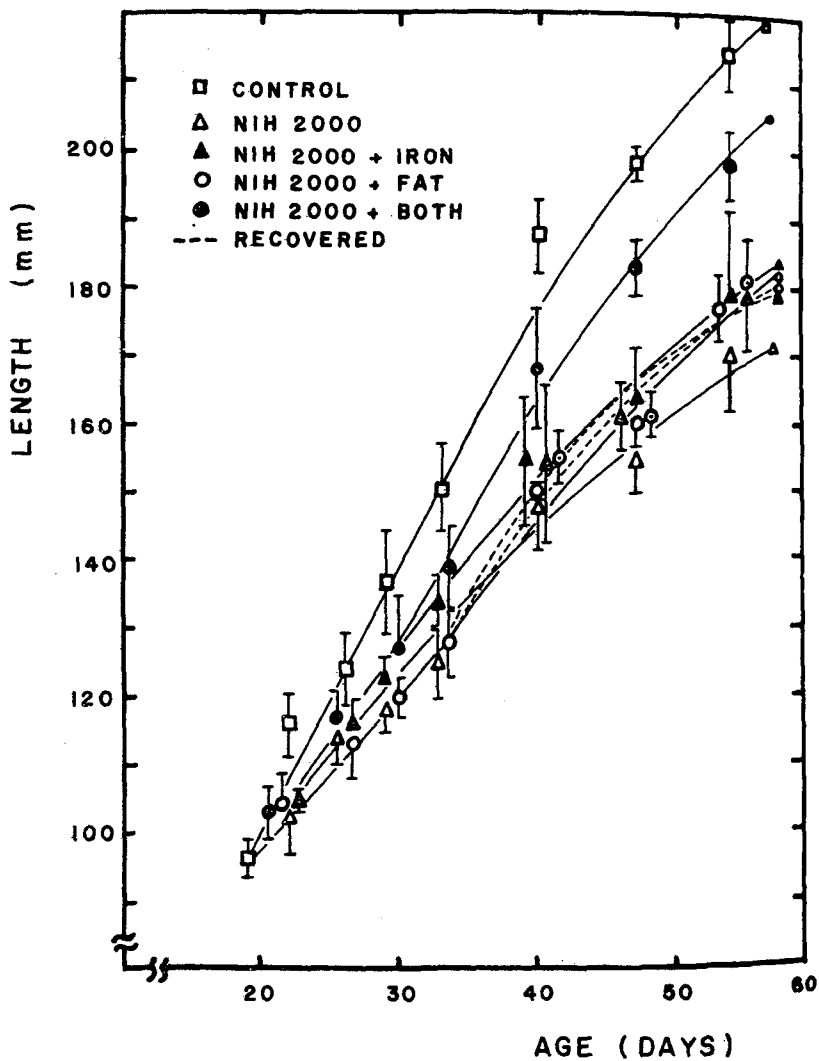


FIGURE 2

Nose-rump length curves of male albino rats fed a caries-promoting diet supplemented with essential nutrients

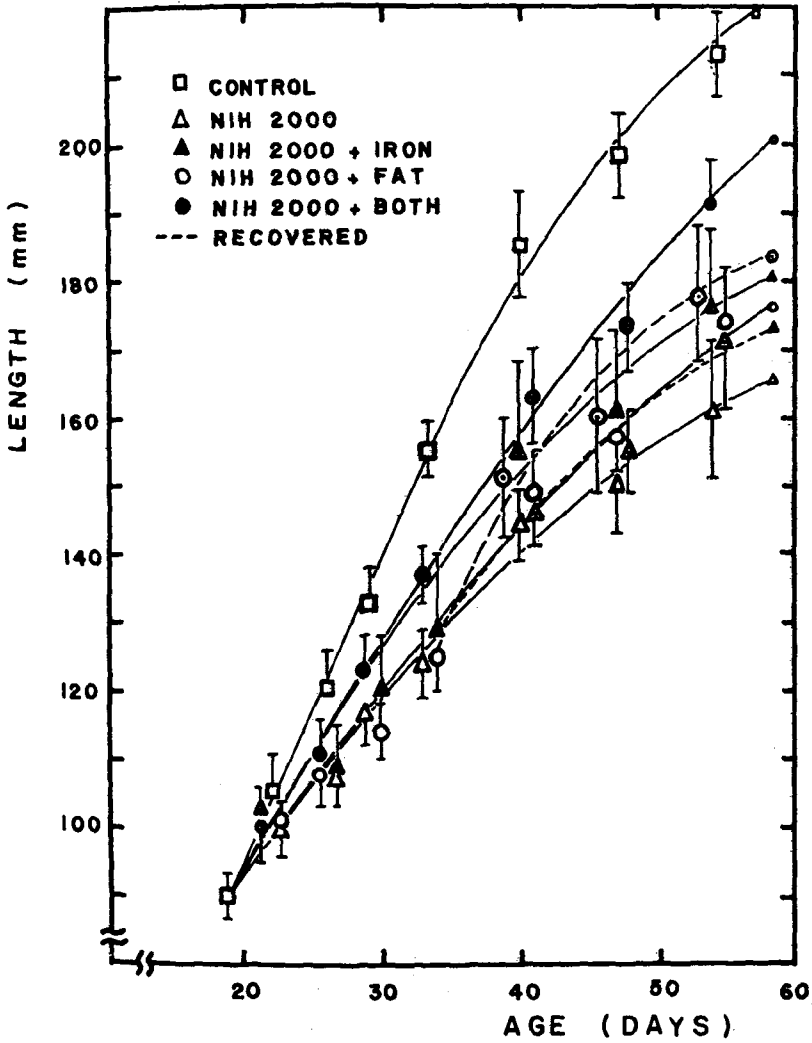


FIGURE 3

Rump-tail length curves of male albino rats fed a caries-promoting diet supplemented with essential nutrients

TABLE 1
 INFLUENCE OF SUPPLEMENTATION ON FINAL BODY AND ORGAN WEIGHTS OF POST-WEANING
 MALE ALBINO RATS^{1,2}

Days	Control	MIT 200		NIH 2000	
		Basal	Suppl. ¹	Basal	Suppl. ²
<i>Body weight</i>					
40	288.50 ± 20.89	282.40 ± 19.50	300.40 ± 29.77	214.90 ± 18.84 ³	217.00 ± 25.00 ³
60	353.50 ± 24.40	360.35 ± 22.91	355.20 ± 23.18	243.20 ± 25.56 ³	300.90 ± 24.00 ³
<i>Liver</i>					
40	13.37 ± 1.71	12.90 ± 2.01	14.98 ± 2.98	7.76 ± 1.08 ³	8.46 ± 1.38 ³
60	13.92 ± 1.06	15.73 ± 2.46	14.55 ± 1.50	7.60 ± 2.75 ³	12.20 ± 1.04 ³
<i>Heart</i>					
40	1.02 ± 0.06	1.04 ± 0.07	1.13 ± 0.05	1.05 ± 0.13	0.95 ± 0.10
60	1.20 ± 0.12	1.21 ± 0.08	1.23 ± 0.11	1.12 ± 0.09	1.14 ± 0.12
<i>Spleen</i>					
40	0.84 ± 0.28	0.84 ± 0.15	0.96 ± 0.06	0.74 ± 0.13	0.74 ± 0.12
60	0.86 ± 0.21	1.04 ± 0.16	0.75 ± 0.06	0.67 ± 0.13	0.75 ± 0.10

The underlines joining the groups denote that these treatments have not been shown to be significant ($p < 0.05$).

¹ Supplemented with 1% fat.

² Supplemented with 3% fat, 3% mineral mix and 1% vitamin mix.

³ $p < 0.01$.

TABLE 2
COMBINED AVERAGE CARIES SCORES FOR ALL LESIONS
(Buccal + sulcal + proximal)^{1, 2}

Lesión ³	Control	MIT 200		NIH 2000	
		Basal	Suppl. ¹	Suppl. ²	Basal
E	2.4	14.3	14.3	16.3	20.1 ⁴
D _s	0.4	1.9	9.4	9.7 ⁵	16.8 ⁴
D _m	0	0.8	3.9	2.9	10.0 ⁵

The underlines joining the groups denote that these treatments have not been shown to be significant ($p < 0.05$).

¹ Supplemented with 1% fat.

² Supplemented with 3% fat, 3% mineral mix and 1% vitamin mix.

³ E = enamel only; D_s = slight dentinal and D_m = moderate dentinal.

⁴ $p < 0.01$.

⁵ $p < 0.05$.

TABLE 3
HEMOGLOBIN AND HEMATOCRIT OF MALE ALBINO RATS FED SUPPLEMENTED DIETS^{1,2}

	Control	MIT 200		NIH 2000	
		Basal	Suppl. ¹	Suppl. ²	Basal
<i>59 days</i>					
Hemoglobin (g ^o /o)	<u>15.2 ± 1.1</u>	<u>14.7 ± 1.4</u>	<u>15.0 ± 1.1</u>	<u>14.7 ± 1.7</u>	12.2 ± 1.3 ³
Hematocrit (o/o)	<u>40.5 ± 4.1</u>	<u>38.1 ± 3.8</u>	<u>37.3 ± 3.2</u>	<u>38.3 ± 5.4</u>	31.8 ± 3.4 ³
<i>79 days</i>					
Hemoglobin (g ^o /o)	<u>16.8 ± 0.8</u>	<u>16.8 ± 1.0</u>	<u>16.8 ± 0.7</u>	<u>16.4 ± 0.7</u>	13.0 ± 1.0 ³
Hematocrit (o/o)	<u>42.5 ± 1.8</u>	<u>41.6 ± 1.4</u>	<u>41.8 ± 1.2</u>	<u>41.4 ± 1.3</u>	34.1 ± 2.9 ³

The underlines joining the groups denote that these treatments have not been shown to be significant ($p < 0.05$).

¹ Supplemented with 1^o/o fat.

² Supplemented with 3^o/o fat, 3^o/o mineral mix and 1^o/o vitamin mix.

³ $p < 0.01$.

Pigmentation of the incisor teeth does not disappear when the supplemented diet is fed.

Finally, there is a 50% reduction in buccal caries lesions (Table 2) in the supplemented NIH 2000 diet when compared to the non-supplemented basal diet.

DISCUSSION

The data obtained indicate that while both caries-promoting diets are inadequate when compared to a diet that satisfies the requirements for growth (1), under the conditions of this experiment diet MIT 200 compares with the standard National Research Council (NRC) diet. In order to obtain better growth of animals fed diet MIT 200 the investigator had to offer the experimental diet in excess of the daily requirement so as to satisfy the caloric deficit caused by the reduced fat with increased intake of food. When this is accomplished we then conclude that MIT 200 is significantly better than NIH 2000.

Supplementation of diet NIH 2000 with fat, minerals and vitamins improves growth of the animal and brings parameters of iron nutriture to the normal levels of controls. Due to the fact that we are dealing with a so-called "natural diet" because its ingredients are added without considering amounts of nutrients supplied, supplementation with a vitamin mixture and a mineral mixture probably increases the requirement of other nutrients. This observation is based on the improved growth yet not quite reaching levels of the controls.

The interesting finding in the supplementation of diet NIH 2000 is the fact that caries scores are reduced 50% in the buccal lesions. This in turn supports the hypothesis that there is a mechanism mediated by a mineral and/or a vitamin which interacts with caries formation in buccal areas. This could be mediated through saliva which is readily available to bathe these surfaces. In another publication (8), supplementation with a specific nutrient (iron) clarifies this mechanism.

RESUMEN

**INFLUENCIA DE LA SUPLEMENTACION EN LA CARIES DENTAL
Y CRECIMIENTO DE RATAS ALIMENTADAS CON
DOS DIETAS MODELO**

Con el fin de mejorar la calidad de las dietas MIT 200 y NIH 2000, ambas promotoras de caries, éstas fueron suplementadas con grasa. Además, la dieta NIH 2000 se suplementó con minerales y vitaminas. Se encontró que la suplementación con nutrientes esenciales mejora la calidad de ambas, y refuerza el crecimiento al compararse con el de animales testigo. Asimismo, la adición de minerales y vitaminas a la dieta NIH 2000 abolió la pérdida de pigmentación de los incisivos, mejoró la hemoglobina y el hematocrito, y redujo los puntajes de caries en las superficies bucales en 50%, en contraste con la constatada en las ratas que recibieron la dieta no suplementada. Es posible que las propiedades cariogénicas de la dieta NIH 2000 se deban en parte a la deficiencia de un nutriente dado.

ACKNOWLEDGEMENTS

The senior author is thankful for the assistance and advice of Drs. Lor Cury, Juan Navia, Paul Newberne, Abraham Nizel and Robert Suskind. In addition, for the technical assistance received from John Dos Passos.

BIBLIOGRAPHY

1. Sintes, J. & S. Miller. Growth, development and dental caries incidence in rats fed two experimental diets. *Arch. Latinoamer. Nutr.*, 33: 283-307, 1983.
2. Van Es, A. The energetics of fat deposition during growth. *Nutr. Metab.*, 21: 88-104, 1977.
3. Hughes, P. & J. Tanner. A longitudinal study of the growth of the black-hooded rat: methods of measurements and rates of growth for skull, limbs, pelvis, nose-rump and tail lengths. *J. Anat.*, 2: 349-370, 1970.
4. Bunyard, M. Effects of high sucrose cariogenic diets with varied protein calorie levels on the bones and teeth of the rat. *Calc. Tiss. Res.*, 8: 217-227, 1971.

5. Keyes, P. Dental caries in the molar teeth of rats. II. A method for diagnosing and scoring several types of lesions simultaneously. *J. Dent. Res.*, **37**: 1088, 1958.
6. Losee, F. Adding color for better visualization of dental caries. *Dental Progress*, **3**: 280-283, 1963.
7. Sokal, R. & F. Rohlf. Single classification analysis of variance. In: *Biometry*. San Francisco, Calif., W. H. Freeman & Co., 1969, p. 204-252.
8. Sintes, J. & S. Miller. Influence of dietary iron on the dental caries incidence and growth of rats fed an experimental diet. *Arch. Latinoamer. Nutr.*, **33**: 322-338, 1983.

**INFLUENCE OF DIETARY IRON ON THE DENTAL
CARIES INCIDENCE AND GROWTH OF RATS FED
AN EXPERIMENTAL DIET^{1, 2, 3}**

Jorge L. Sintes⁴ and Sanford A. Miller⁵

**Oral Science Laboratories, Department of Nutrition and
Food Science, Massachusetts Institute of Technology,
Cambridge, Mass. 02139, United States of America**

SUMMARY

In view of the fact that supplementation with essential nutrients improves the quality of diet NIH 2000 and enhances growth, this study was carried out to determine the effects of supplementation with a specific

- 1 Contribution No. 3778 of the Department of Nutrition and Food Science, Massachusetts Institute of Technology, Cambridge, Mass. 02139.
- 2 Supported by the National Institute of Dental Research Grant No. 5-T01-DE00105. Dr. Sintes was supported by a postdoctoral training fellowship provided by the National Institute of Dental Research, National Institutes of Health, Bethesda, Maryland.
- 3 Presented in part at the American Dental Association, Conference on Foods, Nutrition and Dental Health, Chicago, IL, October 1978 and at the International Association for Dental Research, New Orleans, La., April 1979; *J. Dent. Res.* **58**, 1326 (abstract).
- 4 Oral Health Research Center, 110 Fuller Place, Hackensack, N.J., 07601, USA.
- 5 Food and Drug Administration, Bureau of Foods 200 C Street, S. W., Washington, D. C. 20204, USA.

nutrient. Diet 2000 was supplemented with 35 ppm of FeSO_4 and fed *ad libitum* for 40 days. Iron supplementation reverses the caries process and reduces its incidence especially in the buccal surfaces which are bathed readily by saliva. In addition, hemoglobin and hematocrit, growth and pigmentation of the incisor teeth improve significantly with supplementation. The results of this experiment suggest that the effect of diet in the caries process involves not only the sucrose component of the diet but also an essential nutrient such as iron.

INTRODUCTION

The effect of iron on tooth decay is not definitive but previous experiments (1) support a role of iron in the dental caries process. Historically, McClure (2) added 250 ppm ferric chloride and ferric citrate to the drinking water of rats maintained on a caries-promoting diet for four months. A 50% reduction in caries development was observed in the group fed iron in the chloride form, and no reduction when fed in the citrate state. A 30% increase was observed in the group fed 500 ppm iron as ferric citrate.

Torell (3) concluded that iron salts affect enamel solubility by establishing layers of ferric precipitates which bind to phosphate ions on the enamel surface, increasing the dissolution of apatite. The same author suggested that for a better understanding of the role of iron in the destruction process, research work is needed dealing with the influence of saliva, the action of iron complex forming agents, and the significance of precipitated ferric hydroxide present in the mouth.

Emilson and Krasse (4) showed that in hamsters, the addition of ferric chloride or ferrous sulphate either to the drinking water or to the diet given *ad libitum*, reduces the level of experimental caries. Topical applications of solutions of these compounds also reduced caries incidence.

Wegner *et al.* (5) published information pertaining to the interrelation of fluoride and iron in anemia. Previous experiments indicated that a reduced fluoride intake by mice has increased the severity of the anemia in pregnancy and infancy. The diet employed had a high content of whole wheat flour (58%) which contains phytic acid, a chelator which interferes with iron absorption.

The purpose of this study was to supplement caries-promoting diet NIH 2000 with iron in order to determine the role of this nutrient in the dental caries process.

MATERIALS AND METHODS

Experimental Design

In order to determine the effects of iron on standard caries-promoting diet NIH 2000, the basal diet was supplemented with 35 mg of ferrous sulphate. In addition fat was added to supply for the observed caloric deficit. The diets were fed at weaning for 40 days. The following five diets were evaluated during the above period:

Group

- A MIT 25% protein diet⁶ (control)
- B NIH 2000 basal diet⁷
- C NIH 2000 + 35 ppm FeSO₄
- D NIH 2000 + 1% corn oil
- E NIH 2000 + 35 ppm FeSO₄ + 1% corn oil

Sixty 19-day-old males were weighed, measured and randomly assigned to experimental groups (12 per group) and housed in groups of 12 in plastic breeding cages. Food and deionized water were given *ad libitum*.

Animal Husbandry

Sprague Dawley rats⁸ of the CD strain were used in these experiments. Animals were housed under controlled humidity (50-55%) and temperature (72°F ± 2°F) with equal hours of light and darkness.

They were weighed in a Torbal balance and measured as described by Hughes and Tanner (6) from the day of arrival and throughout the entire period on a twice-a-week basis up to 35 days of age, then weekly thereafter. All animals were observed daily for condition of skin, hair, tail.

6 Sintes, J. & S. Miller. *Arch. Latinoamer. Nutr.*, 33(2): 283-307, 1983.

7 Sintes, J. & S. Miller. *Arch. Latinoamer. Nutr.*, 33(2): 308-321, 1983.

8 Charles River Breeding Laboratories, Wilmington, Mass.

Inoculation Technique

To reduce the experimental period, the animals were challenged on day 19, 20 and 21 with a pure culture of *S. mutans*⁹. The inoculum was also added to the water for the three days. At the end of the inoculation period animals were placed in suspended stainless steel cages, one per cage. The implantation of *S. mutans* was checked by swabbing animals at the end of the first week and the day before sacrifice, and plating on Mitis Salivarius Agar (MSA) plus Streptomycin sulfate.

Eight animals were sacrificed by guillotine 40 days after weaning. Vital organs including heart, liver and spleen were weighed in an analytical balance¹⁰ and fixed in 100/o neutral buffered formalin (NBF) solution for histopathology.

Skulls were also fixed in 100/o NBF, washed thoroughly with running water and placed in the autoclave for 15 minutes at 15 psi. The jaws were removed, cleaned and weighed in an analytical balance.

Pigmentation of the incisor teeth was assessed throughout the entire study either as normal (orange color), partly depigmented or completely white (7).

Caries Scores

Mandibular caries were scored according to the method described by Keyes (8). In order to have a better delineation of the extent of involvement of the carious process, mandibles were stained with Murexide (9).

Determination of Hemoglobin and Hematocrit

Heparinized microhematocrit capillary tubes were used to collect blood samples from the retro-orbital venous plexus of etherized adult rats. Samples were centrifuged for 15 minutes at 2700 rpm and read on an international micro-capillary reader. Hemoglobin concentration was determined by removing 0.02 ml of blood from the retro-orbital venous plexus of etherized adult

⁹ Ingbritt 1600, Streptomyces resistant strain, Forsyth Dental Center, Boston, Mass.

¹⁰ Mettler Corp., Highstown, N. J.

rats and mixing immediately with 5 ml of Hycel cyanomethemoglobin reagent.

Statistical Analysis

The comparisons of the five groups were analyzed using the F test. If there was a statistically significant F value ($p \leq 0.05$), an *a posteriori* test, based on multiple comparisons among means of equal sample sizes was applied (Student-Newman-Keuls test) to determine which groups were statistically different from each other. With both tests, a $p \leq 0.05$ was considered to be significant (10).

RESULTS

The purpose of this work was to determine whether iron supplementation of caries-promoting diet NIH 2000 is nutritionally adequate to support growth in the young rat and maintenance in the adult rat when compared to a diet that satisfies the requirements established by the National Research Council (NRC). At the same time, an effort was made to determine the effects of iron supplementation upon the mechanism of caries induction.

Measuring growth by weight gain of the animal revealed that under the experimental conditions used, diet supplementation with iron, fat, or a combination of both, did improve the growth pattern of the animals when compared to the non-supplemented group, but still remained significantly lower when compared to that of the controls (Figure 1). A similar growth pattern is observed when measuring growth by length gained (Figures 2, 3).

Two weeks after inoculation with *S. mutans* I.B. 1600, animals fed diets NIH 2000 basal and NIH 2000 + fat lost the pigmentation of their incisor teeth. Four rats in each group were sacrificed. Hemoglobin and hematocrit values revealed a statistical significant difference between animals without iron supplementation and the other groups (Table 1). Caries scores at the time revealed no significant statistical difference between the NIH 2000 diets (supplemented versus nonsupplemented); only demineralization areas were observed (Tables 2, 3).

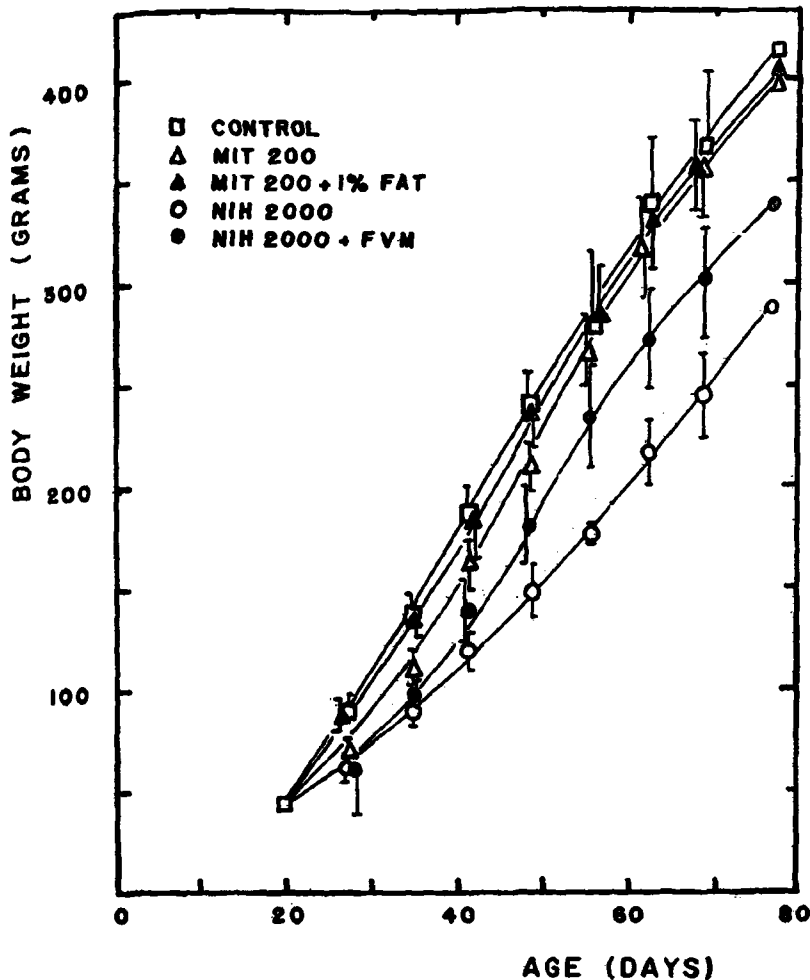


FIGURE 1

Growth curves of male albino rats fed a caries-promoting diet supplemented with iron, fat or both

At the same time, four animals in the NIH 2000 basal diet and in the NIH 2000 +fat were fed NIH 2000 supplemented with 35 ppm of FeSO_4 , to observe the effects of this treatment on recovery. Four weeks later, animals in all groups were sacrificed.

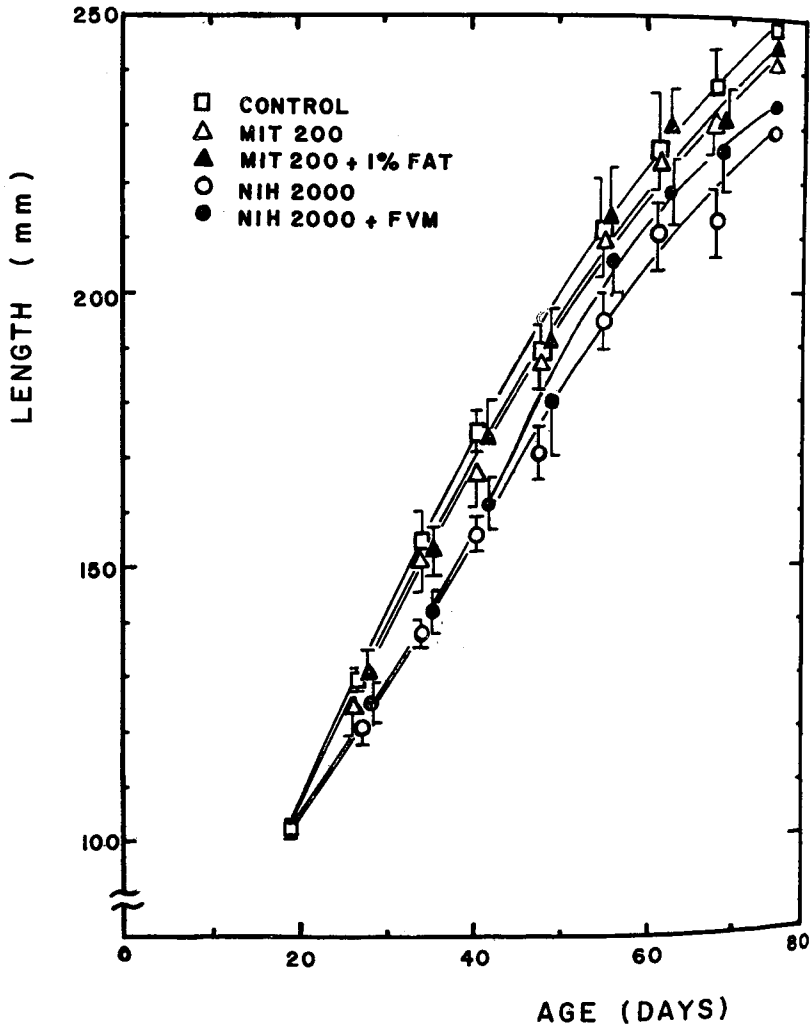


FIGURE 2

Nose-rump length curves of male albino rats fed a caries-promoting diet supplemented with iron, fat or both

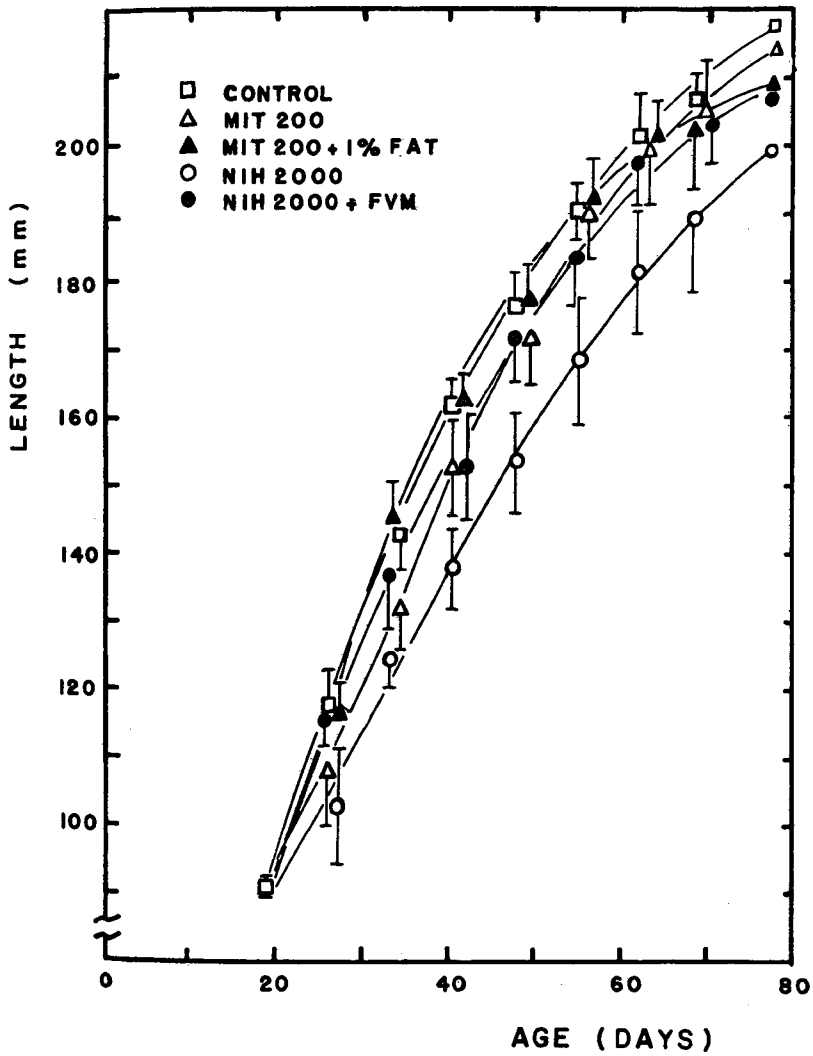


FIGURE 3

Rump-tail length curves of male albino rats fed a caries-promoting diet supplemented with iron, fat or both

TABLE 1
HEMOGLOBINS AND HEMATOCRITS OF MALE ALBINO RATS FED DIET NIH 2000 SUPPLEMENTED^{1,2,3}

Control	Iron ¹	Iron, fat ²	NIH 2000 Basal ⁴	Fat ⁵	Basal	Fat ⁸
<i>Hemoglobin (g/o)⁶</i>						
<u>11.3 ± 0.9</u>	<u>12.6 ± 0.6</u>	<u>12.5 ± 0.6</u>	—	—	<u>8.6 ± 1.7</u>	<u>8.3 ± 1.1⁷</u>
<i>Hematocrit (o/o)⁶</i>						
<u>35.4 ± 3.4</u>	<u>35.3 ± 1.4</u>	<u>34.3 ± 1.2</u>	—	—	<u>25.8 ± 2.8</u>	<u>23.8 ± 2.0⁷</u>
<i>Hemoglobin (g/o)⁸</i>						
<u>15.6 ± 0.4</u>	<u>16.8 ± 0.9</u>	<u>16.8 ± 0.5</u>	<u>14.8 ± 0.4</u>	<u>15.3 ± 0.4</u>	<u>11.0 ± 1.0</u>	<u>10.9 ± 0.5⁷</u>
<i>Hematocrit (o/o)⁸</i>						
<u>42.2 ± 1.3</u>	<u>42.7 ± 1.1</u>	<u>42.8 ± 1.6</u>	<u>40.8 ± 0.9</u>	<u>40.8 ± 0.8</u>	<u>33.1 ± 3.1</u>	<u>31.6 ± 2.2⁷</u>

The underlines joining the groups denote that these treatments have not been shown to be significant ($p \leq 0.05$).

1 Supplemented with 35 ppm of FeSO₄.

2 Supplemented with 35 ppm of FeSO₄ and 1% fat.

3 Supplemented with 1% fat.

4 Basal recovered.

5 Fat recovered.

6 Two weeks post-weaning.

7 $p \leq 0.01$.

8 Forty days post-weaning.

TABLE 2
 AVERAGE CARIES SCORES FOR ALL SURFACES OF RIGHT
 MANDIBLES FOR 14 DAYS POST-WEANING RATS^{1,2,3}

Lesion ⁴	Basal	NIH 2000 + Iron ¹	+ Fat ²	+ Iron, Fat ³
<i>Buccal</i>				
E	8.5	6.5	8.5	4.5
D _s	1.0	0	1.0	0
D _m	0	0	0	0
<i>Sulcal</i>				
E	12.8	11.5	12.0	11.5
D _s	0	0	0	3.8
D _m	0	0	0	0
<i>Proximal</i>				
E	0.5	0	1.0	0.5
D _s	0	0	0	0
D _m	0	0	0	0

1 Supplemented with 35 ppm of FeSO₄.

2 Supplemented with 10/o fat.

3 Supplemented with 35 ppm of FeSO₄ and 10/o fat.

4 E = enamel only; D_s = slight dentinal, and D_m = moderate dentinal.

As Table 4 shows, final body weights and organ weights upon autopsy revealed a statistical difference between those obtained from controls and those fed the supplemented NIH 2000 diet (4).

Hematocrit and hemoglobin values in the supplemented iron and rehabilitated groups were all statistically different from the

TABLE 3

COMBINED AVERAGE CARIES SCORES FOR ALL LESIONS
(BUCCAL + SULCAL + PROXIMAL)^{1, 2, 3}

Lesion ⁴	NIH 2000			
	Basal	+ Iron ¹	+ Fat ²	+ Iron, Fat ³
E	21.8	18.0	21.5	16.5
D _s	1.0	0	1.0	3.8
D _m	0	0	0	0

1 Supplemented with 35 ppm of FeSO₄.

2 Supplemented with 1% fat.

3 Supplemented with 35 ppm of FeSO₄ and 1% fat.

4 E = enamel only; D_s = slight dentinal, and D_m = moderate dentinal.

nonsupplemented basal diet (Table 1). Caries scores in the iron supplemented groups were reduced from ± 14 buccal lesions (NIH 2000 basal) to ± 3 (NIH 2000 + FeSO₄) (Tables 5, 6). There was a significant reduction of caries when iron was introduced into diet NIH 2000.

Depigmentation of incisor teeth was not recovered when animals were placed on a diet supplemented with iron after two weeks on the basal diet or the diet supplemented with fat. However, skin lesions were abolished with iron supplementation, while scaliness of the tail was abolished with fat supplementation. This was interpreted to mean that iron is necessary for the maintenance of the appearance of the fur, and that the essential fatty acids are necessary to maintain a healthy tail.

DISCUSSION

Animals fed diet NIH 2000 supplemented with iron from the beginning of the experiments had less caries scores, especially in the buccal surfaces.

The work of Menaker and Navia (11) demonstrated that marginal protein deficiency can produce increased susceptibility of the tooth to caries in the rat. In our study, there appears to be a close connection between increased caries incidence and iron deficiency.

TABLE 4
INFLUENCE OF SUPPLEMENTATION OF DIET NIH 2000 ON THE FINAL BODY AND ORGAN WEIGHT
OF 40 DAYS POST-WEANING RATS

Control	Iron + Fat ¹	Iron ²	Fat ³	Basal
<i>Body Weight</i>				
272.10 ± 10.7	250.50 ± 23.6	217.30 ± 25.8 ⁴	226.50 ± 11.5 ⁴	188.80 ± 30.5 ⁵
			(222.00 ± 15.9)	(200.50 ± 21.1) ⁴
<i>Liver</i>				
14.16 ± 1.2	12.7 ± 0.7	10.1 ± 1.4	9.5 ± 0.9 ⁴	7.9 ± 1.9 ⁵
			(10.2 ± 1.5)	(9.4 ± 1.3) ⁴
<i>Heart</i>				
0.96 ± 0.09	1.09 ± 0.08	0.86 ± 0.18	1.12 ± 0.09	0.94 ± 0.14
			(1.04 ± 0.13)	(0.91 ± 0.14)
<i>Spleen</i>				
0.54 ± 0.07	0.71 ± 0.12	0.45 ± 0.10	0.80 ± 0.23	0.63 ± 0.07
			(0.61 ± 0.19)	(0.58 ± 0.07)

1 Supplemented with 35 ppm of FeSO₄ and 1% fat.

2 Supplemented with 35 ppm of FeSO₄.

3 Supplemented with 1% fat.

4 p < 0.05.

5 p < 0.01.

Figures in parentheses are recovered groups.

TABLE 5

AVERAGE CARIES SCORES FOR ALL SURFACES OF RIGHT
MANDIBLES FOR 40 DAYS POST-WEANING RATS.^{1, 2, 3}

Lesion ⁴	NIH 2000					
	Basal	Basal ⁵	+ Iron ¹	+ Fat ²	+ Fat ⁶	+ Iron, Fat ³
<i>Buccal</i>						
E	6.8	6.5	2.4	7.0	3.0	2.3
D _s	3.5	3.0	0.9	4.0	1.0	0.8
D _m	3.5	2.5	0	2.5	0	0.3
<i>Sulcal</i>						
E	13.3	12.8	8.1	12.8	11.5	7.1
D _s	12.3	10.5	0.8	12.0	4.5	2.1
D _m	6.0	5.5	0	4.5	0.5	0
<i>Proximal</i>						
E	1.8	1.5	0	2.0	1.0	0
D _s	1.3	1.0	0	1.3	0	0
D _m	0.5	0.3	0	0.3	0	0

1 Supplemented with 35 ppm of FeSO₄.

2 Supplemented with 1% fat.

3 Supplemented with 35 ppm of FeSO₄ and 1% fat.

4 E = enamel only; D_s = slight dentinal, and D_m = moderate dentinal.

5 Basal recovered.

6 Fat recovered.

TABLE 6

COMBINED AVERAGE CARIES SCORES FOR ALL SURFACES
(BUCCAL + SULCAL + PROXIMAL)^{1,2,3}

Lesion ⁴	NIH 2000					
	Basal	Basal ⁵	+ Iron ¹	+ Fat ²	+ Fat ⁶	+ Iron, Fat ³
E	21.8	20.8	10.3 ⁷	21.3	15.5 ⁸	9.4 ⁷
D _s	17.0	14.5	1.8 ⁷	17.3	5.5 ⁷	2.9 ⁷
D _m	10.0	8.3	0	7.3	0.5 ⁷	0.3 ⁷

1 Supplemented with 35 ppm of FeSO₄.

2 Supplemented with 1% fat.

3 Supplemented with 35 ppm of FeSO₄ and 1% fat.

4 E = enamel only; D_s = slight dentinal, and D_m = moderate dentinal.

5 Basal recovered.

6 Fat recovered.

7 $p < 0.01$.

8 $p < 0.05$.

as evidenced by results with diet NIH 2000. Supplementation of this diet with FeSO₄ reverses the caries process and reduces its incidence, especially in the buccal surfaces which are readily bathed by saliva.

In an attempt to describe the mechanism by which NIH 2000 produces increased caries we must offer a multiple explanation. Such an explanation would include the following:

1. The constituents of the diet, i.e., whole wheat flour, have been suggested as possible metal-binding agents (12).
2. The amount of iron in the diet, 16 ppm versus 45 ppm in the control is marginal for the rat.
3. Pigmentation of rat incisor teeth is dependent on iron and disappears in anemic rats (13).
4. Reduced salivary volume and the amount of protein produced is one reflection of the decreased functional capacity of the salivary gland when stressed with a marginal deficiency such as protein (14).
5. A proline-rich salivary protein has been identified as present

in normal humans. Its amino acid composition is similar to collagen and is cleaved readily by Clostridial collagenase A (15).

Not all of these explanations are mechanistic definitions of iron and caries.

Collagen is dependent on ascorbic acid and iron for its biosynthesis. Ascorbic acid is not a required nutrient in the rat. Therefore, we can hypothesize that one of the marginal deficiencies demonstrated with caries-promoting diet NIH 2000 is due to iron. This diet produces high caries scores especially in the buccal surfaces of molars because it reduces the salivary volume and content of protein. We can speculate that due to the deficiency there is interference with the biosynthesis of salivary proteins dependent on iron such as the proline-rich proteins identified by Oppenheim *et al.* (15). It may also be true that these proteins may be the proteins associated with the remineralization processes which are well known to occur on enamel surfaces *in vivo* as well as *in vitro* (16).

RESUMEN

INFLUENCIA DEL HIERRO DIETETICO EN LA CARIES DENTAL Y CRECIMIENTO DE RATAS ALIMENTADAS CON UNA DIETA EXPERIMENTAL

Considerando que la suplementación con nutrientes esenciales mejora la calidad de la dieta NIH 2000 y acelera el crecimiento, se llevó a cabo este estudio con el fin de determinar los efectos de la suplementación con un nutriente específico. Así, la dieta 2000 fue suplementada con 35 ppm de FeSO_4 , administrándose luego *ad libitum* durante un período de 40 días. Se encontró que la suplementación con hierro revierte el proceso de la caries y reduce su incidencia, sobre todo en las superficies bucales fácilmente humedecidas por la saliva. Además, la hemoglobina y el hematocrito, el crecimiento y la pigmentación de los incisivos también mejora significativamente. Los resultados de este experimento sugieren que el efecto que la dieta en cuestión ejerce en el proceso de las caries, implica no sólo el componente sucrosa de la dieta, sino también la inclusión de un nutriente esencial, tal como el hierro.

ACKNOWLEDGEMENTS

The senior author is thankful for the assistance and advice of Drs. Lor Cury, Juan Navia, Paul Newberne, Abraham Nizel and Robert Suskind. In addition, for the technical assistance received from John Dos Passos.

BIBLIOGRAPHY

1. Sintes, J. & S. Miller. Growth, development and dental caries incidence in rats fed two experimental diets. *Arch. Latinoamer. Nutr.*, **33**: 283-307, 1983.
2. McClure, F. Observations on induced caries in rats. VI. Summary results on various modifications of food and drinking water. *J. Dent. Res.*, **27**: 34, 1948.
3. Torell, P. The possible caries activating effect of chemical reaction between sucrose and ferric iron. *Odont. Tidsk*, **64**: 165, 1956.
4. Emilson, C. & B. Krasse. The effect of iron salts on experimental dental caries in the hamster. *Arch. Oral Biol.*, **17**: 1439-1443, 1972.
5. Wegner, M., L. Singer, R. Ophaug, & S. Magil. The interrelation of fluoride and iron in anemia. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **153**: 414-418, 1976.
6. Hughes, P. & J. Tanner. A longitudinal study of the growth of black-hooded rat: methods of measurement and rates of growth for skull, limbs, pelvis, nose-rump and tail lengths. *J. Anat.*, **2**: 349-370, 1970.
7. Bunyard, M. Effects of high sucrose cariogenic diets with varied protein calorie levels on the bones and teeth of the rat. *Calc. Tiss. Res.*, **8**: 217-227, 1971.
8. Keyes, P. Dental caries in the molar teeth of rats. II. A method for diagnosing and scoring several types of lesions simultaneously. *J. Dent. Res.*, **37**: 1088, 1958.
9. Losee, F. Adding color for better visualization of dentinal caries. *Dental Progress*, **3**: 280-283, 1963.
10. Sokal, R. & F. Rohlf. Single classification analysis of variance. In: *Biometry*. San Francisco, Calif., W. H. Freeman & Co., 1969, p. 204-252.
11. Menaker, L. & J. Navia. Effect of undernutrition during the perinatal period on caries development in the rat. IV. Effects of differential tooth eruption and exposure to a cariogenic diet on subsequent dental caries development in the rat. *J. Dent. Res.*, **52**: 692-697, 1973.
12. Ismail-Beigi, F., B. Faraji & J. Reinhold. Binding of zinc and iron to

- wheat bread, wheat bran and their components. *Am. J. Clin. Nutr.*, **30**: 1721-1725, 1977.
13. Smith, M. & E. Lantz. Changes in the incisors of albino rats accompanying a deficiency of vitamin A. *J. Home Econ.*, **25**: 5, 1933.
 14. Menaker, L. & J. Navia. Effect of undernutrition during the perinatal period on caries development in the rat. V. Changes in whole saliva volume and protein content. *J. Dent. Res.*, **53**: 592-597, 1974.
 15. Oppenheim, F., D. Hay & C. Franzblau. Proline-rich proteins from human parotid saliva. I. Isolation and partial characterization. *Biochem.*, **10**: 4223-4238, 1971.
 16. Koulourides, T. Remineralization methods. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **153**: 84, 1968.

**EFFECTO DE LA EPOCA DE COSECHA SOBRE LA
COMPOSICION DE COTILEDONES CRUDOS Y
FERMENTADOS DE DOS VARIEDADES DE CACAO Y
FRACCIONES DE CASCARILLA**

Juan de Dios Alvarado¹, Fernando E. Villacís² y Gino F. Zamora²

**Escuela de Ingeniería en Alimentos, Universidad Técnica
de Ambato, Ambato, Ecuador**

RESUMEN

Durante el período comprendido de agosto de 1979 a enero de 1980 se llevó a cabo el análisis mensual de muestras de cacao crudo y fermentado de dos variedades: *Arriba*, procedente de una finca de la zona de Quevedo, y *EET-19*, desarrollada en Pichilingüe por el Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias del Ecuador (INIAP).

A partir de las mazorcas se determinó el peso de las partes principales, que fueron mayores en la *EET-19*. Se estableció la composición proximal de los cotiledones, observándose diferencias estadísticamente significativas en cuanto al contenido de humedad, proteína y extracto etéreo en función del mes de cosecha. Con respecto al proceso de fermentación, hubo diferencias en el contenido de humedad, extracto etéreo y cenizas; en cambio, entre variedades se constataron diferencias en el contenido de extracto etéreo y cenizas.

Manuscrito modificado recibido: 30-9-81.

1 Escuela de Ingeniería en Alimentos de la Universidad Técnica de Ambato, Casilla 916, Ambato, Ecuador.

2 Ingenieros en Alimentos, Casillas 455 y 903, respectivamente, Ambato, Ecuador.

zas. La grasa extraída de los cotiledones acusó diferencias en los valores de índice de yodo, índice de saponificación e índice de acidez entre las muestras crudas y fermentadas, pero no así entre variedades; en lo referente al mes de cosecha, se observaron diferencias en los valores de índice de acidez. Se informa la composición porcentual de ácidos grasos principales (palmítico, esteárico, oleico y linoleico).

Con el propósito de sugerir posibles usos industriales de la cascarilla de cacao —actual desecho de las plantas de semielaborados— se determinaron las características químicas en cinco fracciones, a partir del funcionamiento de la descascarilladora. El contenido de humedad, proteína, extracto etéreo, cenizas, fibra cruda, teobromina y cafeína varió entre las fracciones, y fue dependiente del contenido de almendras rotas. En cuanto a los diferentes meses de producción, hubo diferencias en el contenido de proteína, extracto etéreo y cenizas. Evidentemente, el alto contenido de grasa en la fracción A (polvillo) y B (triturado fino) que fluctuó entre 30 y 11 g/100 g, amerita su extracción; la torta remanente posee un contenido apreciable de proteína y alcaloides. Las características químicas de la grasa extraída de dos fracciones de cascarilla fueron similares a las de la extraída de los cotiledones.

INTRODUCCION

Existe escasa información relativa a la composición química de las variedades de cacao (*Theobroma cacao* L.) *Arriba* y *EET-19*, a pesar que el cacao forastero *Arriba* está clasificado entre los de buen sabor y propiedades aromáticas que lo hacen muy cotizado en el mercado internacional (1).

La recolección de mazorcas de cacao se realiza durante todo el año conforme alcanzan su madurez. Sin embargo, no existen datos que permitan establecer la variación en los constituyentes principales con relación a la época de cosecha.

En los sitios de recolección se efectúa el proceso conocido como "beneficio"; que consiste en partir la mazorca y extraer las semillas con la testa y la pulpa. Luego se someten a un proceso de fermentación y secado por dos o tres días, al medio ambiente, en capas de 5 a 10 cm de espesor que un operario remueve periódicamente con los pies.

Según Braudeau (2), en la fermentación se elimina la pulpa mucilaginosa; se evita la germinación por muerte del embrión; se desencadenan modificaciones bioquímicas en el interior de los cotiledones, y se disminuye el amargor y la astringencia. Roelofsen (3), señala varios estudios realizados en lo que a los cambios que

ocurren durante este proceso se refiere, pues determina el sabor y aroma de la cocoa y chocolate a obtener.

Luego de la fermentación, los cotiledones se utilizan en la obtención de semielaborados: licor o pasta de cacao, torta y/o polvo de cacao y manteca de cacao; a partir de éstos, los chocolates elaborados. En todos los casos el grano se limpia y tuesta, y luego se separa la cascarilla de las almendras o "nibs" en máquinas conocidas como descascarilladoras. Seguidamente el proceso continúa según el producto que se desee obtener.

Autores como Knapp y Churchman (4), dan cuenta de la composición de la cascarilla en forma global; sin embargo, en las plantas industriales se obtienen diversas fracciones de cascarilla—según el funcionamiento de la máquina— y son consideradas como desechos. El conocimiento de la composición de las diferentes fracciones permitirá sugerir alternativas para una mejor utilización de los componentes.

La manteca de cacao es un producto de valor comercial apreciable por sus propiedades físicas y químicas, notificadas por Minifie (5) y otros autores. Según Kirk y Othmer (6), durante la tostación muchas celdillas de la superficie de la almendra estallan y esparcen algo de manteca de cacao sobre la cáscara. También es de esperar un aumento en el contenido de manteca en la cascarilla debido a la presencia de pedazos de almendras. Conviene conocer este cambio y posibles modificaciones antes de su utilización.

MATERIALES Y METODOS

Se utilizaron muestras de mazorcas de cacao, variedad *Arriba* y *EET-19*, de plantaciones cercanas a la población de Quevedo, situada a una altura de 54 metros sobre el nivel del mar. Las muestras fueron recolectadas mensualmente en el período comprendido entre agosto de 1979 y enero de 1980. El grado de madurez se estableció según las características físicas.

En el caso de la variedad *Arriba* la fermentación se realizó en la finca conforme el proceso tradicional ya señalado, y en el caso de la variedad *EET-19*, la fermentación se llevó a cabo en la Estación Experimental Pichilingüe, la cual se encuentra a 66 metros sobre el nivel del mar.

Las muestras de cascarilla fueron obtenidas mensualmente durante el mismo lapso en una planta industrial de semielaborados.

Se establecieron las siguientes fracciones según las diferentes secciones de la descascarilladora y considerando el incremento en tamaño de partícula: (a) polvillo, que corresponde al 6.70/o del total; (b) triturado fino, que corresponde al 6.80/o del total; (c) triturado, que corresponde al 15.90/o del total; (d) mezcla de fracciones anteriores, que corresponde al 29.40/o del total, y (e) cascarilla propiamente dicha con partículas de mayor tamaño, que corresponde al 70.60/o del total.

El análisis químico proximal de todas las muestras se llevó a cabo utilizando los métodos indicados en las Normas para Cacao del Instituto Ecuatoriano de Normalización (INEN) y los métodos oficiales de la AOAC (7).

Para determinar los valores de índice de yodo, índice de saponificación e índice de acidez en la grasa obtenida de los cacaos crudo y fermentado y fracciones de cascarilla, se aplicaron los métodos indicados en las Normas de INEN. El punto de goteo se registró en un equipo marca Mettler FP 53 según la técnica de Ubelhode indicada por los fabricantes para un ascenso de temperatura de 0.20C/min.

La determinación de ácidos grasos en muestras previamente esterificadas fue realizada por cromatografía de gas mediante su comparación con estándares en las siguientes condiciones: temperatura de columna, 1800C, temperatura del inyector, 1850C; temperatura del detector, 2050C; presión de entrada de gas nitrógeno 26 p.s.i., columna de cobre empacada de Chromosorb W 60/80 recubierto de fase estacionaria mixta formada por DEGS, y FFAP al 150/o en relación 2:1.

El contenido de teobromina y cafeína en las fracciones de cascarilla se estableció según el método gravimétrico de Ceriotti (8). La determinación de pH se efectuó en un potenciómetro Beckman, con una relación cascarilla-agua de 1:10.

El efecto del mes de cosecha y la variedad con respecto al peso de mazorca y peso de semilla sin mucílago y germen se determinó mediante un análisis de varianza con dos criterios de clasificación y dos o más observaciones por celda de doble entrada. En los cotiledones de cacao, se aplicó un análisis de varianza con tres criterios de clasificación, para establecer el efecto de las variantes: variedad, proceso de fermentación y mes de cosecha sobre los valores de composición proximal y valores analíticos de la grasa. El efecto de las variantes mes de producción y fracciones de cascarilla sobre los valores de composición proximal, teobromina, cafeína y pH en los desechos se determinó utilizando un análisis de

varianza con dos criterios de clasificación. En todos los casos se emplearon las técnicas de análisis de varianza descritas por Romo (9).

RESULTADOS Y DISCUSION

En la Tabla 1 se indica el peso en gramos de las partes principales de cacao variedad *Arriba* y el número de semillas por mazorca, en diferentes meses de cosecha, observándose que el peso disminuyó considerablemente en diciembre en las partes consideradas. Las mismas determinaciones para la variedad *EET-19*, se consignan en la Tabla 2, y se aprecia que el peso de la mazorca fue mayor en el mes de octubre y disminuyó en diciembre.

No fue posible establecer en ninguna de las dos variedades, mediante correlación simple, un grado de asociación estadísticamente significativo ($P < 0.05$), entre el peso de mazorca y el peso de semillas con mucílago y germen, ni entre el peso de mazorca y el peso de semillas sin mucílago y germen.

Los pesos determinados en la mazorca y las semillas sin mucílago y germen de la variedad *EET-19* fueron superiores a los de la variedad *Arriba*, existiendo diferencias altamente significativas ($P < 0.01$) debidas a la variedad y al mes de cosecha.

La composición proximal de los cotiledones y valores analíticos de la grasa extraída, en muestras de cacao crudo y fermentado, cosechadas en meses diferentes de la variedad *Arriba* se detalla en la Tabla 3. Iguales determinaciones se notifican en la Tabla 4 para el cacao, variedad *EET-19*.

Según se observa, los valores de composición proximal son semejantes a los informados para muestras de cacao africano por Kirk y Othmer (6), y a los recopilados por Allerton (1) para la variedad *Arriba*, excepto el contenido de fibra cruda y humedad.

Con respecto al contenido de humedad, se establecieron diferencias altamente significativas ($P < 0.01$) debidas al proceso de fermentación, y explicables por el secado que se realiza. Se constataron diferencias significativas ($P < 0.05$) con respecto al mes de cosecha, aun cuando las diferencias no fueron significativas entre variedades.

El contenido de proteína en las muestras de la variedad *Arriba* acusó un incremento que varió de 12 g/100 g en el mes de agosto a casi 16 g/100 g en el mes de noviembre, para luego

TABLA 1

PESO EN GRAMOS DE LAS DIFERENTES FRACCIONES DE CACAO* VARIEDAD *ARRIBA*
(Cosecha: agosto de 1979 a enero de 1980)

Mes	Mazorca	Corteza	Semillas con mucílago y germen	Semillas con germen	Semillas sin germen	No. de semillas por mazorca
Agosto	733 ± 84.07	638.4 ± 80.10	94.6 ± 10.57	54.4 ± 4.4	53.3 ± 4.48	36 ± 6.44
Septiembre	610 ± 118.23	488.8 ± 122.29	121.2 ± 15.19	65.9 ± 11.5	64.9 ± 11.09	38 ± 4.36
Octubre	742 ± 123.56	645.9 ± 111.47	96.1 ± 18.73	55.5 ± 6.16	54.4 ± 6.13	40 ± 4.22
Noviembre	613 ± 158.17	493.6 ± 156.35	119.2 ± 28.60	65.3 ± 13.19	64.2 ± 13.20	36 ± 5.42
Diciembre	250 ± 50.83	190.1 ± 50.58	50.0 ± 5.53	38.2 ± 5.14	35.4 ± 5.04	30 ± 8.24
Enero	450 ± 37.23	395.0 ± 35.78	104.8 ± 4.19	58.4 ± 1.87	57.4 ± 1.77	36 ± 7.29

* Valores promedios de 10 determinaciones ± Desviación Estandar.

TABLA 2

PESO EN GRAMOS DE LAS DIFERENTES FRACCIONES DE CACAO* VARIEDAD *EET-19*
(Cosecha: agosto de 1979 a enero de 1980)

Mes	Mazorca	Corteza	Semillas con mucílago y germen	Semillas con germen	Semillas sin germen	No. de semillas por mazorca
Agosto	899 ± 30.06	729.8 ± 57.80	156.1 ± 14.70	111.9 ± 8.66	110.7 ± 8.63	44 ± 2.65
Septiembre	835 ± 118.27	652.3 ± 121.43	182.7 ± 10.47	112.4 ± 6.24	111.2 ± 6.17	48 ± 3.12
Octubre	907 ± 79.76	741.5 ± 80.25	165.5 ± 12.77	110.8 ± 9.87	109.6 ± 9.86	44 ± 4.26
Noviembre	791 ± 40.75	607.3 ± 42.12	183.8 ± 5.64	109.5 ± 5.39	108.2 ± 5.31	38 ± 6.22
Diciembre	746 ± 131.78	548.7 ± 118.69	197.3 ± 17.55	108.9 ± 9.21	107.8 ± 9.20	40 ± 4.12
Enero	844 ± 67.12	643.1 ± 62.12	201.3 ± 9.37	112.1 ± 8.90	110.9 ± 8.90	44 ± 3.36

* Valores promedios de 10 determinaciones ± Desviación Estandar.

TABLA 3
COMPOSICION PROXIMAL (g/100 g seco) Y VALORES ANALITICOS DE GRASA EXTRAIDA
DE COTILEDONES DE CACAO CRUDO Y FERMENTADO VARIEDAD ARRIBA
 (Cosechadas: agosto de 1979 a enero de 1980)

Determinación	Agosto		Septiembre		Octubre		Noviembre		Diciembre		Enero	
	Crudo	Fer- men- tado	Crudo	Fer- men- tado	Crudo	Fer- men- tado	Crudo	Fer- men- tado	Crudo	Fer- men- tado	Crudo	Fer- men- tado
Humedad	31.99	7.15	32.04	8.01	28.48	6.16	29.96	8.53	29.01	5.84	30.20	8.07
Proteína (Nx6.25)	12.04	12.91	12.08	12.84	14.39	14.73	15.91	15.82	15.76	15.37	13.73	14.89
Cenizas	4.14	3.17	3.97	2.99	4.17	3.60	4.53	3.52	3.88	3.19	4.07	3.42
Fibra cruda	5.99	8.63	7.04	8.45	5.71	9.58	4.81	7.14	7.45	4.49	6.88	6.85
Extracto etéreo	51.52	52.07	52.53	53.80	52.80	53.09	50.11	51.22	49.89	51.72	51.53	52.17
Indice de yodo ^a	37.65	35.78	39.82	38.01	38.15	37.12	40.95	35.87	37.78	37.68	38.92	37.92
Indice de saponi- ficación ^b	188.75	190.63	191.32	192.83	189.63	191.15	190.69	192.65	190.15	191.88	189.26	193.12
Indice de acidez ^c	0.49	0.70	0.76	0.83	0.69	0.76	0.72	0.81	0.68	0.87	0.71	0.78
Punto de goteo (°C)	35.10	35.05	35.20	36.00	34.80	35.00	35.10	35.15	34.90	35.55	35.20	35.20

a Gramos de yodo absorbidos por 100 g de grasa.

b Miligramos de KOH requeridos para saponificar 1 g de grasa.

c Miligramos de KOH requeridos para saturar los ácidos grasos libres de 1 g de grasa.

TABLA 4

COMPOSICION PROXIMAL (g/100 g seco) Y VALORES ANALITICOS DE GRASA EXTRAIDA
DE COTILEDONES DE CACAO CRUDO Y FERMENTADO VARIEDAD *EET-19*
(Cosechadas: agosto de 1979 a enero de 1980)

Determinación	Agosto		Septiembre		Octubre		Noviembre		Diciembre		Enero	
	Crudo	Fer- men- tado	Crudo	Fer- men- tado	Crudo	Fer- men- tado	Crudo	Fer- men- tado	Crudo	Fer- men- tado	Crudo	Fer- men- tado
Humedad	31.50	8.51	30.15	9.77	27.03	7.47	31.92	9.17	31.30	5.43	32.05	7.59
Proteína (Nx6.25)	13.97	13.08	13.84	12.50	14.06	14.13	14.51	15.05	14.57	14.20	14.39	14.65
Cenizas	3.71	3.14	3.76	3.02	3.80	2.95	3.56	3.73	3.58	3.32	3.73	3.31
Fibra cruda	6.82	7.72	7.27	6.07	6.41	8.17	9.22	7.54	7.96	6.98	7.15	7.09
Extrato etéreo	50.01	51.79	50.48	51.71	50.80	51.94	50.25	51.13	50.16	51.65	49.79	51.40
Indice de yodo ^a	38.19	36.95	38.75	38.94	41.01	37.85	39.12	38.65	38.01	37.15	39.05	38.77
Indice de saponi- ficación ^b	192.14	193.12	189.78	190.71	191.16	190.68	190.05	194.20	190.77	193.87	191.05	192.14
Indice de acidez ^c	0.63	0.75	0.59	0.92	0.77	0.87	0.71	0.86	0.69	0.79	0.75	0.83
Punto de goteo (°C)	35.95	34.65	35.00	34.80	35.60	35.50	35.30	34.80	36.05	35.05	35.60	34.80

a Gramos de yodo absorbidos por 100 g de grasa.

b Miligramos de KOH requeridos para saponificar 1 g de grasa.

c Miligramos de KOH requeridos para saturar los ácidos libres de 1 g de grasa.

declinar. La variedad *EET-19* presentó poca variación, no siendo posible establecer diferencias significativas ($P < 0.05$) debidas al proceso de fermentación, ni a la variedad. Sí hubo diferencias significativas ($P < 0.01$) entre los meses de cosecha.

En cuanto al contenido de cenizas, se encontraron diferencias altamente significativas ($P < 0.01$) debidas al proceso de fermentación, lo que es explicable por la difusión de sales hacia la cáscara señalado por Roelofsen (3). Se establecieron diferencias significativas ($P < 0.05$) entre variedades, pero sin poder establecer diferencias de importancia entre los meses de cosecha.

Según sabemos, la materia grasa constituye el principal componente de la semilla de cacao, con valores del orden de 50 g/100 g seco. En las dos variedades investigadas en nuestro estudio se encontró un ligero incremento después de la fermentación. Ello es explicable, por cuanto los glóbulos grasos no se difunden rápidamente durante los primeros días de fermentación, a diferencia de otros componentes (3). Se comprobaron diferencias muy significativas ($P < 0.01$) en cuanto al contenido de grasa entre variedades, meses de cosecha, y luego del proceso de fermentación. La variedad *Arriba* registró valores ligeramente superiores.

En lo concerniente a los valores de índice de yodo, índice de saponificación e índice de acidez para todas las muestras, la variación fue mínima. Tampoco se determinaron diferencias de significado ($P < 0.05$) entre las variedades, ni entre meses de cosecha, salvo en lo que respecta al índice de acidez. Hubo altas diferencias de significado estadístico ($P < 0.01$) ocasionadas por el proceso de fermentación.

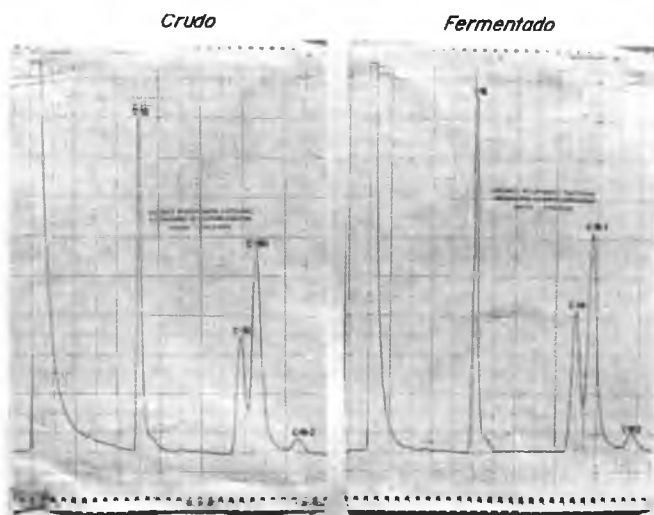
La grasa de cacao no presenta un punto de fusión definido. Por ello, se informa el punto de goteo, que es próximo a la temperatura del cuerpo humano.

La Figura 1 ilustra los cromatogramas tipo de ácidos grasos de grasa extraída de cotiledones crudos y fermentados de cacao, variedades *Arriba* y *EET-19*. En la grasa de cacao se estableció principalmente ácido palmítico (C-16), esteárico (C-18) y oleico (C-18-1), lo que concuerda con lo indicado por Allerton (1); además, existe una pequeña proporción de ácido linoleico (C-18-2). Existe variación en el contenido de ácidos grasos, especialmente palmítico y esteárico, en los diferentes meses de cosecha (Tabla 5).

La composición proximal de las fracciones de cascarilla se expone en la Tabla 6, y los valores analíticos de la grasa, el contenido de teobromina, cafeína y pH, en la Tabla 7.

El contenido de humedad de las diferentes fracciones presenta

VARIEDAD ARRIBA



VARIEDAD EET-19

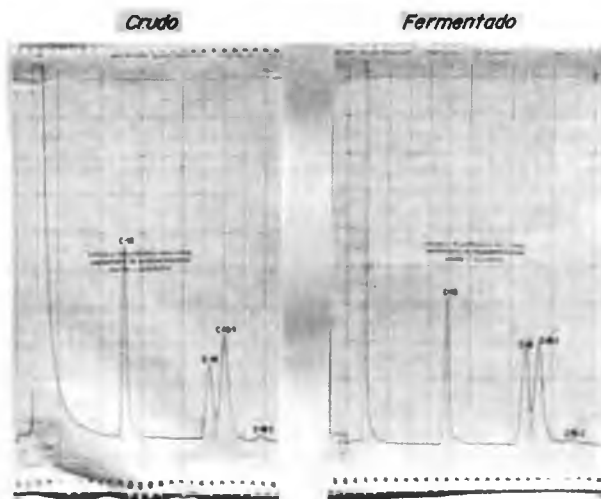


FIGURA 1

Cromatogramas tipos de ácidos grasos de manteca extraída de cotiledones de cacao

TABLA 5

CONTENIDO DE ACIDOS GRASOS DE GRASA EXTRAIDA DE COTILEDONES DE CACAO VARIEDAD *ARRIBA*
Y *EET-19* CRUDO Y FERMENTADO COSECHADOS EN MESES DIFERENTES

(Porcentaje de ácidos grasos determinados)

		Variedad <i>Arriba</i>				Variedad <i>EET-19</i>			
		C-16	C-18	C-18-1	C-18-2	C-16	C-18	C-18-1	C-18-2
Agosto 1979	Crudo	38.22	23.01	36.14	2.64	36.49	23.00	37.60	2.92
	Fermentado	38.44	18.14	36.79	6.63	27.52	32.82	37.58	2.07
Septiembre 1979	Crudo	27.34	32.43	36.60	3.63	24.13	35.43	37.49	2.96
	Fermentado	30.35	28.52	38.19	2.94	30.21	32.20	35.49	2.11
Octubre 1979	Crudo	28.84	32.58	34.88	3.75	29.38	33.98	35.57	1.08
	Fermentado	31.97	25.26	39.12	3.65	26.25	35.73	34.82	3.19
Noviembre 1979	Crudo	39.10	17.86	39.26	3.80	28.81	33.10	36.83	1.26
	Fermentado	34.90	21.72	39.95	3.43	28.76	34.35	35.26	1.63
Diciembre 1979	Crudo	26.66	33.75	38.49	1.29	33.48	30.25	35.15	1.12
	Fermentado	39.64	20.64	37.23	2.17	30.24	32.71	34.62	2.17
Enero 1980	Crudo	30.68	28.82	37.48	3.02	28.31	32.42	36.86	2.05
	Fermentado	31.17	26.42	39.15	3.48	27.65	34.46	36.27	2.97

TABLA 6

COMPOSICION PROXIMAL DE FRACCIONES DE CASCARILLA
DE CACAO RECOLECTADAS EN UNA PLANTA DE SEMIELABORADOS
(g/100 g seco)

			Humedad	Proteína (Nx6.25)	Cenizas	Fibra cruda	Extracto etéreo
Agosto	1979	A	2.67	14.75	7.01	15.33	23.03
		B	2.98	13.44	8.88	17.45	11.46
		C	3.19	12.08	9.00	20.58	4.57
		D	2.98	12.88	8.42	17.91	9.79
		E	3.77	12.56	8.59	19.88	3.46
Septiembre	1979	A	2.03	14.14	7.29	16.28	21.53
		B	3.13	12.21	7.66	18.11	12.57
		C	3.10	10.94	8.21	13.78	4.09
		D	2.83	12.40	8.47	13.29	10.94
		E	4.40	11.03	8.41	17.22	4.89
Octubre	1979	A	2.55	14.36	6.62	16.27	29.75
		B	2.79	12.19	6.95	19.57	13.83
		C	2.89	11.40	8.16	17.79	8.00
		D	3.70	11.90	8.47	17.45	13.27
		E	4.04	10.99	8.46	18.31	4.87
Noviembre	1979	A	3.37	17.18	5.05	15.97	22.05
		B	3.54	16.34	5.77	17.51	12.94
		C	3.75	14.20	7.48	19.95	4.63
		D	3.62	13.82	8.39	17.65	12.79
		E	3.75	14.57	8.38	20.02	4.02
Diciembre	1979	A	2.37	17.52	5.77	15.63	21.86
		B	2.68	15.40	6.54	18.32	11.58
		C	3.11	14.09	7.64	20.19	4.72
		D	2.72	13.97	8.42	19.01	11.61
		E	4.33	12.91	8.40	20.01	3.99
Enero	1980	A	2.67	15.93	5.37	16.02	20.38
		B	2.98	14.02	6.58	17.72	14.04
		C	3.11	13.20	7.52	20.02	4.54
		D	2.99	12.95	8.14	17.82	11.07
		E	3.77	13.40	8.43	19.93	4.33

A = Ventanilla 1 (Polvillo). B = Ventanilla 2 (Triturador fino). C = Ventanilla 3 (Triturado). D = Mezcla de ventanillas 1-2-3. E = Mezcla de ventanillas 4-5-6-7 del descascarillador.

TABLA 7

VALORES ANALITICOS DE GRASA, TEOBROMINA, CAFEINA Y pH
DE FRACCIONES DE CASCARILLA DE CACAO RECOLECTADAS
EN UNA PLANTA DE SEMIELABORADOS

		Indice de yodo ^a	Indice de sa- ponifi- cación ^b	Indice de acidez ^c	Teobro- mina (g/100 g seco)	Cafeína (g/100 g seco)	pH	
Agosto	1979	A			1.82	0.20	5.50	
		B			1.54	0.18	4.90	
		C			0.75	0.08	4.70	
		D	33.65	193.54	1.11	1.29	0.13	4.80
		E	34.02	196.77	1.22	1.11	0.11	4.99
Septiembre	1979	A			2.10	0.23	5.45	
		B			1.71	0.21	5.30	
		C			0.80	0.09	4.90	
		D	35.12	194.72	1.43	1.32	0.10	5.10
		E	33.71	196.18	1.45	1.00	0.10	5.00
Octubre	1979	A			1.92	0.19	5.20	
		B			1.76	0.22	4.90	
		C			0.99	0.11	4.80	
		D	34.87	193.85	1.38	1.60	0.12	4.80
		E	32.45	194.86	1.59	1.12	0.12	5.20
Noviembre	1979	A			1.86	0.12	5.30	
		B			1.69	0.20	5.00	
		C			0.89	0.08	4.70	
		D	35.69	194.95	1.41	1.45	0.15	4.80
		E	33.43	198.15	1.63	0.98	0.09	5.20
Diciembre	1979	A			1.87	0.19	5.40	
		B			1.70	0.19	5.20	
		C			0.94	0.09	4.90	
		D	33.87	195.05	1.29	1.55	0.16	5.00
		E	34.22	197.63	1.49	1.05	0.11	5.10
Enero	1980	A			2.05	0.21	5.40	
		B			1.66	0.17	5.00	
		C			0.96	0.12	4.80	
		D	34.92	193.78	1.33	1.40	0.14	4.90
		E	32.09	196.96	1.66	0.99	0.09	5.00

A = Ventanilla 1 (Polvillo). B = Ventanilla 2 (Triturado fino). C = Ventanilla 3 (Triturado). D = Mezcla de ventanillas 1-2-3. E = Mezcla de ventanillas 4-5-6-7 del descascarillador.

a g de yodo/100 g de grasa.

b mg de KOH requeridos para saponificar 1 g de grasa.

c mg de KOH requeridos para saturar los ácidos grasos libres de 1 g de grasa.

un rango estrecho de variación que fluctúa entre 2 y 4 g/100 g, producto de la operación previa de tostación.

El contenido de proteína fue mayor en la fracción A, alcanzando valores de 17 g/100 g seco, para luego disminuir en las fracciones restantes. Este hecho lo puede explicar la presencia de una mayor cantidad de almendras rotas. Asimismo, al efectuar el análisis de varianza, se determinaron diferencias de alto significado estadístico ($P < 0.01$) en el contenido de proteína de los diferentes desechos, y en los diferentes meses de producción.

El contenido de extracto etéreo de la fracción A o polvillo es apreciable, habiéndose establecido un valor de hasta 30 g/100 g seco. Ese valor disminuye en el resto de fracciones, pero en la fracción B o triturado fino el contenido de grasa, que alcanza hasta 14 g/100 g, permite pensar en su extracción.

Los valores de índice de yodo, índice de saponificación e índice de acidez no acusaron mayor variación y son semejantes a los obtenidos en la grasa extraída de almendras.

Knapp (10) señala que originalmente las cáscaras no contienen teobromina, adquiriéndola por difusión desde los cotiledones durante la fermentación; en cascarilla de semillas de cacao bien fermentado se alcanza valores superiores a 1 g/100 g. Se estableció una diferencia altamente significativa ($P < 0.01$) en el contenido de teobromina de las fracciones consideradas, que puede atribuirse a la mayor o menor cantidad de almendras rotas presentes. Sin embargo, no se constataron diferencias significativas entre los meses de producción. Igual comportamiento pudo observarse en cuanto al contenido de cafeína.

No fue posible establecer correlaciones de significado estadístico entre el pH y el contenido de teobromina, ni entre el pH y el contenido de cafeína de las diferentes fracciones.

Debido al alto porcentaje de grasa parece recomendable utilizar el polvillo y el triturado fino para su extracción. En la torta residual, el contenido de alcaloides presentaría valores dignos de ser considerados para posible extracción.

SUMMARY

EFFECT OF THE HARVEST SEASON ON THE COMPOSITION OF RAW AND FERMENTED COTYLEDONS OF TWO VARIETIES OF CACAO AND SHELL FRACTIONS

A study was carried out wherein during the period August 1979 to

January 1980, samples of raw and fermented cacao were analyzed monthly. These included two varieties: *Arriba*, taken from a farm in "Quevedo", and the *EET-19*, grown in "Pichilingüe" by the Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP).

Taking the ear of cacao as a basis, the weight of its main parts was determined. The proximal composition was established in the cotyledons, with significant statistical differences in regard to moisture, protein, and ether extract content according to the month of harvest. As to the fermentation process, differences in moisture, ether extract and ash content were detected; differences in the ether extract and ash content were found between the two varieties. The fat extracted from the cotyledons presented different iodine, saponification and acidity index values between the raw and fermented samples, but none were determined between the varieties; as far as the month of harvest is concerned, differences in the acidity index were observed. The percentage composition of the main fatty acids is reported (palmitic, stearic, oleic, and linoleic acids).

In order to suggest possible industrial ways of utilizing the cacao shell by-product which is discarded by the shelling machine, the chemical characteristics of five fractions were determined based on the functioning of the shelling machine. The moisture, protein, ether extract, ash, crude fiber, theobromine, and caffeine contents varied among the fractions, and it was dependent on the broken "nibs" content. Differences in the protein, ether extract, and ash content, according to the months of production, were found. Obviously, the high fat content in fractions A (fine dust) and B (fine ground), which varied from 30 to 11 g/100 g, merits its extraction; the remainder meal has a valuable protein and alkaloid content. The chemical characteristics of the fat extracted from the shell of two fractions were similar to the fat extracted from the cotyledons.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a los técnicos del INIAP su valiosa ayuda en la obtención de las muestras de cacao. Asimismo, al Departamento de Producción de la Empresa Colcacao, entidad que tuvo a bien facilitar las muestras de cascarilla, y a la Escuela Politécnica Nacional, por la realización de los análisis cromatográficos.

BIBLIOGRAFIA

1. Allerton, J. Chocolate and cocoa products. En: **Encyclopedia of Food Technology**. Vol. 2. Johnson and Peterson (Eds.). Westport, Conn., The Avi Publishing Co. Inc., 1974, p. 195-215.
2. Bradeau, J. **El Cacao**. Trad. del francés por Angel Hernández. Barcelona, Editorial Blume, 1970, 297 p.
3. Roelofsen, P. A. Fermentation, drying and storage of cacao beans. **Adv. Food Res.**, 8: 225-296, 1958.
4. Knapp, A. W. & A. Churchman. Cacao shells and its use as an accessory fodder. **J. Soc. Chem. Ind.**, 56: 29-33, 1937.
5. Minifie, B. W. **Chocolate, Cocoa and Confectionery: Science and Technology**. Westport, Conn., The Avi Publishing Co. Inc., 1970.
6. Kirk & Othmer. **Enciclopedia de Tecnología Química: El Cacao y sus Productos**. Trad. del inglés por Oscar Carrera. Vol. 3. México, Editorial UTEHA, 1961, p. 192-220.
7. Association of Official Agricultural Chemists. **Official Methods of Analysis of the AOAC**. 13th ed. Washington, D. C., The Association, 1980.
8. Wilton, A. L. **Análisis de Alimentos**. 2a. ed. Trad. del inglés por Francisco Vallejo. Barcelona, Editorial Hispano Americana, 1938.
9. Romo, L. **Métodos de Experimentación Científica**. Quito, Editorial Universitaria, 1973, 525 p.
10. Knapp, A. W. & R. Wadsworth. The distribution of theobromine during the fermentation of cacao. **J. Soc. Chem. Ind.**, 43: 124, 1924.

**COMPOSICION QUIMICA, CONTENIDO DE AMINOACIDOS
Y VALOR NUTRITIVO DE LA PROTEINA DE SEMILLA
DE ACHIOTE (*Bixa orellana*, L.)**

*Ricardo Bressani*¹, *Florida Porta-España de Barneón*²,
*J. Edgar Brabam*¹, *Luiz G. Elías*¹ y *Roberto Gómez-Brenes*¹

**Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP),
Guatemala, Guatemala, C. A.**

RESUMEN

En diversas ocasiones, los Ministerios de Agricultura de varios países latinoamericanos se han referido al potencial económico que representa la explotación industrial del pigmento de la *Bixa orellana*, L, la cual se utiliza como colorante natural en la industria alimenticia.

La producción del pigmento dejaría como residuo la semilla que —al ser bien identificada química y nutricionalmente— podría contribuir a que la explotación del achiote fuese más rentable. El propósito principal de este trabajo fue el de obtener información sobre estos aspectos.

Los resultados de análisis químicos de la semilla revelaron que ésta contiene cantidades intermedias de proteína, cifras que variaron entre 13 y 16%. Los niveles de fibra cruda también son relativamente altos, alrededor

Manuscrito modificado recibido: 12-3-82.

- 1 Jefe, y Científicos de la División de Ciencias Agrícolas y de Alimentos del INCAP.
- 2 Estudiante de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala, en estudios tutoriales en la misma División.

Publicación INCAP E-1110.

de 16^o/o; sin embargo, más del 50^o/o de esta fibra puede ser reducida al tamizar la harina de la semilla. Esta operación eleva la proteína, al mismo tiempo que elimina la fibra cruda.

La semilla de achiote es rica en fósforo, pero pobre en calcio. En cuanto a la proteína, parece contener niveles adecuados de triptofano y lisina, pero reducidos de metionina, isoleucina, leucina, fenilalanina y treonina. La calidad de la proteína de la harina de semilla de achiote es de cerca del 65^o/o del valor de la caseína, proteína usada como referencia.

Es probable que parte de este valor proteínico reducido se deba a las deficiencias de aminoácidos, principalmente de metionina, así como a la digestibilidad de la proteína. Esta fue de 57^o/o en comparación con 94^o/o para la caseína, lo que puede atribuirse a la fibra cruda de la semilla del achiote, ya que cuando ésta se eliminó parcialmente, se tradujo en un aumento en digestibilidad hasta del 65^o/o.

Estudios posteriores deberán confirmar las deficiencias de aminoácidos de la proteína del achiote y la digestibilidad de su proteína, a fin de hacer un uso más efectivo de esta fuente potencial de alimento animal, en combinación con otros alimentos.

INTRODUCCION

Un aspecto que ha sido objeto de poca consideración en la mayoría de los países latinoamericanos es el conocimiento químico de los recursos naturales que existen en el área. Ello es esencial para contar con bases de juicio y de más sólido fundamento, para promulgar su cultivo y explotación. Lo que es más, este conocimiento permitiría hacer uso más efectivo de tales recursos, ya sea como materia prima industrial, o como fuente de nutrientes para la población humana y para los animales de la región.

Uno de estos recursos lo constituye precisamente las semillas del achiote (*Bixa orellana*, L.) (1), las cuales están cubiertas por pigmentos de colores anaranjados o rojos, lo que permite usarlas como colorantes en la industria alimenticia (por ejemplo, en la fabricación de quesos) o en la industria avícola (para dar color a la yema del huevo).

A simple vista, el fruto del achiote presenta el aspecto de una cápsula de dos segmentos, a pesar de que ocasionalmente los árboles producen cápsulas de tres segmentos. Algunas variedades tienen la parte externa del fruto recubierta con muchos agujones, y otras la tienen completamente lisa, conteniendo de 30 a 60 semillas por fruto. Estas semillas están recubiertas por una pulpa

rojiza y cerosa que constituye el pigmento.

La composición y estructura química de estos pigmentos han sido sometidas a estudios bastante amplios, siendo la Bixina y la Orelina los pigmentos más abundantes (2). Varios estudios han subrayado la alta actividad de vitamina A de los pigmentos del achiote (3-6), pero poco se sabe acerca de la composición química de la semilla. Algunos informes de análisis químicos indican un contenido de alrededor de 15% de proteína y cantidades similares de fibra cruda (14-15%). El contenido proteínico es significativo y sugiere que podría utilizarse como fuente de este nutriente en raciones para animales, o si se obtiene sin los componentes no utilizables como la fibra cruda, para propósitos de nutrición humana. Su uso con este último objetivo sería factible si la semilla no contuviese sustancias tóxicas, hecho por ahora no reconocido, pero que en el trabajo aquí descrito se intenta esclarecer.

Son muy pocos los estudios en la literatura relativos a la posibilidad de usar la semilla remanente después de la extracción de los pigmentos. Squibb, Guzmán y Scrimshaw (4) en su artículo, señalaron que la semilla del achiote es una fuente rica en carbohidratos, pero no hicieron mención de su contenido proteínico. Luego, Squibb, Méndez y Scrimshaw (7) informaron que la harina de la semilla de achiote podía substituir del 30 al 50% de la harina de maíz en una dieta para pollos de carne. Al substituir todo el maíz, observaron, sin embargo, una depresión en el crecimiento de los polluelos.

MATERIALES Y METODOS

Muestras y Recolección

Las muestras utilizadas en el presente estudio están constituidas por las semillas del fruto de la planta llamada achiote y fueron obtenidas de diversas regiones de la República de Guatemala (Huehuetenango, Palín, Escuintla, Retalhuleu, Mazatenango y Chiquimula).

Se formaron lotes de 10 frutos de las variedades a investigar, comúnmente cultivadas, y se pesó individualmente cada lote para calcular su peso promedio. Luego se les quitó la cáscara y con la semilla se hizo la misma operación a fin de determinar el porcentaje de semillas por fruto. Para calcular el porcentaje del pigmento en peso, en relación con la semilla, se tomaron 100 g de semillas, se

lavarón con agua caliente para despigmentarlas, se secaron y por último se pesaron. El promedio de su tamaño se obtuvo midiendo tanto el fruto como las semillas. Luego se procedió al muestreo de cada fracción del fruto, tomando en cuenta la variedad para el análisis químico.

Preparación del Material

Las semillas fueron utilizadas en dos formas: pigmentadas y despigmentadas. A aquéllas que se usaron sin pigmento, éste se les extrajo como sigue: se construyó en el laboratorio un aparato que básicamente consta de un recipiente cilíndrico de metal, en el que se introducen las semillas hasta la mitad de la capacidad del recipiente; después se les agrega agua hasta una cantidad de 1/2 a 3/4 del volumen total de las semillas (preferentemente caliente, y de ser posible se mantiene esta temperatura para aumentar la solubilidad). El interior del recipiente tiene una hélice accionada por un motor eléctrico, que es el que produce la agitación necesaria para desprender el pigmento de la semilla (la velocidad del motor es controlable). Después de 4 – 6 horas de agitación, está del todo depigmentada una cantidad aproximada de 2 kilos de semillas. El pigmento se recupera por decantación y evaporación hasta dejar el colorante de una consistencia pastosa y se moldea en la forma deseada; una vez seco, está listo para el mercado.

Todo el material utilizado para el análisis químico proximal y para el análisis de aminoácidos se convirtió en harina en un micromolino Wiley, a un grueso de 20 mallas. Se obtuvieron así las muestras que aquí denominamos harina completa depigmentada. Parte de esta última harina se pasó a través de un tamiz de 80 mallas con el objeto de eliminar la cáscara de la semilla. Este material dio origen a la muestra denominada harina depigmentada y tamizada. El material utilizado en los ensayos biológicos, aproximadamente unos 60 kilos de semillas, se pasó también a través de un molino de martillos para convertirlo en harina. El material se guardó en forma de harina, en frascos de vidrio, y a temperatura ambiente.

Análisis Químico

Para determinar su contenido de humedad, grasa, fibra cruda, ceniza y calcio, se usaron los métodos de la AOAC (8). El contenido de fósforo fue establecido por el método de Fiske y

Subbarow (9). La cantidad de hierro fue estimada por el método de Moss y Mellon (10), y el nitrógeno se analizó según la técnica de Hamilton y Simpson (11).

Análisis de Aminoácidos

Se determinó el contenido de aminoácidos esenciales de las harinas de achiote depigmentadas, pigmentadas, molidas y tamizadas, utilizando para ello métodos microbiológicos (12). En las determinaciones de lisina, leucina, isoleucina, metionina, fenilalanina, valina, histidina y arginina se usó *Leuconostoc mesenteroides* P-60 y medio sintético Difco; para el contenido de treonina, *Streptococcus faecalis* 2228 y medio sintético Difco. En las determinaciones anteriores se usaron hidrolizados ácidos y en el caso del triptofano, el hidrolizado fue en medio alcalino, usándose *Lactobacillus arabinosus* 17-5 y medio sintético Difco.

Ensayos Biológicos

Evaluación de la calidad proteínica

El valor nutritivo de las harinas de achiote se determinó sometiéndolas a varios ensayos en ratas jóvenes en proceso de crecimiento, los cuales se desarrollaron en tres etapas sucesivas con una duración de 28 días cada una. En todos los ensayos se emplearon ratas Wistar de tres semanas de edad, de la colonia animal del INCAP, asignándose cuatro hembras y cuatro machos a cada dieta. En el primer ensayo, consistente de tres dietas descritas en la Tabla 1, la harina de semilla de achiote sin pigmento y la harina de semilla de achiote sin pigmento y tamizada fueron incorporadas a la dieta en una cantidad equivalente al 10% de proteína, usando una dieta de caseína como referencia. Los animales se alojaron en jaulas individuales de alambre, con fondo levadizo de tela metálica, suministrándoles *ad libitum* tanto el agua como la ración durante todo el tiempo que duró el experimento. Los animales se pesaron cada siete días, anotándose el aumento de peso y llevando también un registro del peso del alimento consumido en ese período, con miras a determinar el índice de eficiencia proteínica. Todas las dietas fueron analizadas por su contenido de nitrógeno usando el método de la AOAC (8) modificado por Hamilton y Simpson (11).

TABLA 1

COMPOSICION DE LAS DIETAS USADAS EN EL PRIMER ENSAYO BIOLÓGICO*

Ingredientes	Dietas.		
	1	2	3
Harina completa de achiote sin pigmento	71.43	—	—
Harina de achiote sin pigmento y tamizada a 80 mallas	—	60.50	—
Caseína libre de vitaminas	—	—	11.20
Minerales**	4.00	4.00	4.00
Aceite de soya	5.00	5.00	5.00
Aceite de hígado de bacalao	1.00	1.00	1.00
Almidón de maíz	18.57	29.50	78.80
Total	100.00	100.00	100.00
Solución de vitaminas***	5 ml	5 ml	5 ml

* Las dietas con un contenido proteínico de 100/o tenían la misma composición; la proteína se elevó al nivel deseado a expensas del almidón.

** Hegsted y colaboradores (15).

*** Manna y Hauge (16).

Estudios de suplementación con aminoácidos

Con base en los datos del contenido de aminoácidos esenciales determinado en la proteína de la semilla, y los requerimientos de la rata, se hicieron estudios de suplementación con los aminoácidos metionina, lisina y triptofano, los cuales se incorporaron a las dietas descritas en las Tablas 2 y 3. El objetivo fue el de confirmar posibles deficiencias de éstos en la proteína de las harinas de semilla de achiote. El manejo de los animales y otros detalles de estos experimentos fueron similares a los descritos en el párrafo anterior.

TABLA 3
COMPOSICION DE LAS DIETAS USADAS EN EL TERCER ENSAYO BIOLOGICO

Ingredientes	Dietas						
	1	2	3	4	5	6	7
Harina completa molida sin pigmento	71.43	71.43	71.43	71.43	71.43	71.43	—
Caseína (libre de vitaminas)	—	—	—	—	—	—	11.20
L-metionina	—	0.10	0.20	0.30	0.20	0.20	—
L-triptofano	—	—	—	—	0.025	0.025	—
L-lisina HCl	—	—	—	—	—	0.20	—
Minerales	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00
Aceite de soya	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00
Aceite de hígado de bacalao	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Almidón de maíz	18.57	18.47	18.37	18.27	18.345	18.145	78.80
Total	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
Solución de vitaminas	5 ml	5 ml	5 ml	5 ml	5 ml	5 ml	5 ml

Ensayos de digestibilidad de la proteína

Para llevar a cabo estos ensayos se emplearon las mismas ratas y dietas utilizadas en el primer ensayo biológico (Tabla 1). El estudio se efectuó en un período de 10 días divididos en dos etapas, y al final de cada etapa se pesaron las ratas. Las dietas de semilla de achiote que se usaron durante la primera etapa del ensayo se mezclaron con carbón activado y la dieta control de caseína se coloreó con carmín, para determinar con exactitud las heces iniciales de este ensayo. La cantidad de alimentos suministrada fue de 80 g en la primera etapa y de 120 g en la segunda; el agua se proporcionó *ad libitum*. Se recolectaron las heces en forma separada durante cada etapa del ensayo, se deshidrataron, se pesaron y luego se molieron finamente; después fueron tamizadas para eliminar el pelo de los animales. Luego, las heces preparadas en esta forma fueron analizadas para determinar su contenido de nitrógeno (8). Previamente se había establecido el nitrógeno en las dietas utilizando en ambos casos el método de Hamilton y Simpson (11). Con estos datos disponibles, se determinó la digestibilidad aparente.

RESULTADOS

Aspectos Físicoanatómicos del Fruto

Los pormenores respecto a este rubro se exponen en la Tabla 4. Según se aprecia, los resultados obtenidos al sacar el promedio del peso de los frutos agrupados en lotes de 10, indican que la semilla representa entre el 50 y el 57% del peso total del fruto, habiéndose encontrado de 40 a 60 semillas por fruto. Su cápsula mide, en promedio, 3 cm de ancho por 4 cm de largo, y la semilla, de 4 a 6 mm. El color del pigmento en las diferentes muestras fue de anaranjado a rojo, siendo el contenido del pigmento de 4 a 50% del peso de la semilla.

Análisis Químico

El análisis proximal de las harinas completas depigmentadas, de la harina tamizada y depigmentada, del residuo del tamizaje, de la harina completa y pigmentada, de la pasta comercial de pigmento y de la cáscara molida del fruto, se presenta en la Tabla 5.

TABLA 4
RENDIMIENTO Y CARACTERISTICAS DEL FRUTO
Y DE LA SEMILLA DE ACHIOTE

Peso fruta entera*		Peso cáscara	Peso semilla	Semilla, % del peso del fruto
No.	g	g	g	
1	20	10	10	50.0
2	16	8	8	50.0
3	16	7	9	56.2
4	17	8	9	52.9
5	14	6	8	57.1
Tamaño promedio de la cápsula en cm			3.0 x 4.0	
Promedio de semilla, por cápsula			40 a 60	
Color del pigmento			anaranjado a rojo	
Tamaño de la semilla, en mm			4 a 6	
Porcentaje de pigmentos en peso en relación a la semilla, %			4 a 5	

* Los frutos se pesaron en lotes de 10.

El contenido de proteína de las harinas completas, con pigmento y sin pigmento, osciló entre un valor mínimo de 13.7% y uno máximo de 15.6%, y el contenido de fibra cruda acusó un porcentaje mínimo de 15.8 y uno máximo de 16.3. En ambos casos, las diferencias observadas entre las diversas harinas fueron pequeñas, aun en el caso de las semillas depigmentadas con solventes orgánicos. En cuanto a la harina depigmentada y tamizada para eliminar la cáscara, el contenido de proteína ascendió a 16.5% y el de fibra cruda se redujo a 8.7%. Se puede apreciar además, en la Tabla 5, que el contenido de hierro, calcio, fósforo, humedad, grasa y cenizas fue bastante similar en todas las muestras representativas de las harinas estudiadas. Es de interés subrayar que la pasta comercial de venta en Guatemala es impura, ya que contiene 12.4% de proteína. La cáscara del fruto es alta en fibra cruda, lo cual era de esperar.

TABLA 5

ANALISIS QUIMICO PROXIMAL DE LAS DIVERSAS SEMILLAS DE ACHIOTE ESTUDIADAS

No.	Muestra	Humedad %o	Grasa %o	Fibra cruda %o	Proteína %o (N x 6.25)	Cenizas %o	Calcio mg/100 g	Fósforo mg/100 g	Hierro mg/100 g
1	Región Huehuetenango	9.6	2.5	15.8	14.2	4.7	97	327	5.6
2	Región Palín-Escuintla	9.7	1.9	16.1	13.7	4.5	164	282	5.4
3	Región Retalhuleu	8.7	2.4	16.3	15.6	4.9	110	291	5.0
4	Región Mazatenango	10.8	2.5	16.1	14.8	4.5	104	349	4.2
5	Región Chiquimula	7.1	1.5	16.2	14.0	4.5	113	287	5.4
6	Región Chiquimula (semilla entera con pigmento)	7.3	4.3	16.3	14.5	4.9	111	278	5.5
7	Región Chiquimula (pigmento-pasta comercial)	14.4	26.5	2.8	12.4	8.9	—	—	—
8	Región Chiquimula (cáscara del fruto)	12.7	2.4	40.1	7.1	5.5	238	89	28.2
9	Región Retalhuleu (harina depigmen- tada y tamizada a 80 mallas)	10.3	5.12	8.7	16.5	4.9	—	—	—
10	Residuo del tamizaje	10.2	1.46	18.5	12.3	4.8	—	—	—

Datos expresados en 100 g de muestra.

Analisis de Aminoácidos

El análisis de aminoácidos de las harinas de achiote se da a conocer en la Tabla 6, observándose que el contenido de nitrógeno en estas muestras osciló entre 2.40 y 2.52%. El contenido de aminoácidos está expresado en gramos de aminoácidos/100 g de muestra y en g/g de nitrógeno, con pequeñas diferencias entre las diversas harinas preparadas. En la misma Tabla figura la comparación, en términos de porcentaje, con los aminoácidos de la leche, de donde se deduce fácilmente cuáles son los aminoácidos en los que las harinas de achiote son deficientes. Dicha comparación revela que la proteína de la semilla del achiote es deficiente en los aminoácidos triptofano, metionina, leucina, fenilalanina e isoleucina.

Ensayos Biológicos

Los resultados de estos ensayos están enfocados hacia dos aspectos: las harinas de achiote sin suplementar, y las harinas suplementadas. Los hallazgos, en el caso de las harinas sin suplementar que constituyeron la primera fase de los ensayos biológicos— figuran en la Tabla 7. Se logró establecer que la dieta con la harina completa, sin pigmento, fue la que produjo mayores aumentos de peso, aunque menores a los obtenidos con caseína. La harina tamizada, a pesar de que produjo un menor incremento ponderal, acusó un índice de eficiencia proteínica de 1.85, valor semejante al de la semilla molida sin pigmento, que fue de 1.87. La caseína en este estudio dio un índice de 2.89.

En el segundo ensayo, cuyos resultados se detallan en la Tabla 8, se pueden apreciar algunos datos de interés. Primero, al comparar la respuesta de las harinas, con y sin pigmento, se nota que aquéllas con pigmento indujeron un menor aumento de peso y menor índice de eficiencia proteínica que la harina sin pigmento. Más aún, la harina con pigmento causó una mortalidad del 25% (dos de ocho animales), no así la otra. La adición de lisina no indujo ningún cambio de peso o de eficiencia proteínica en contraste con la dieta no suplementada con este aminoácido. Lo contrario pudo observarse al adicionar metionina, ya fuese sola o en presencia de lisina. En estos casos, el peso de los animales a los 28 días fue mayor, y lo mismo ocurrió con el índice de eficiencia proteínica, aun cuando las diferencias no son estadísticamente significativas. De interés es también el hecho de que el residuo del tamizaje

TABLA 6

CONTENIDO DE AMINOACIDOS Y DE NITROGENO EN LAS HARINAS DE ACHIOTE

Aminoácidos	Leche g/g N	H. completa s/pigmen.		H. tamizada s/pigmen.		H. completa c/pigmen.		H. completa s/pigmen.*		Puntaje químico promedio %
		g/100g	g/gN	g/100g	g/gN	g/100g	g/gN	g/100g	g/gN	
Nitrógeno	—	2.49	—	2.52	—	2.45	—	2.40	—	—
Triptofano	0.090	0.165	0.066	0.134	0.053	0.168	0.069	0.142	0.060	69
Lisina	0.496	1.013	0.407	1.042	0.413	1.425	0.425	1.100	0.458	86
Metionina	0.156	0.134	0.054	0.151	0.069	0.128	0.052	0.166	0.069	37
Fenilalanina	0.309	0.462	0.186	0.465	0.185	0.456	0.186	0.451	0.188	60
Leucina	0.626	0.634	0.255	0.634	0.252	0.651	0.266	0.814	0.339	44
Isoleucina	0.407	0.587	0.236	0.638	0.253	0.591	0.241	0.593	0.247	60
Treonina	0.294	0.436	0.175	0.733	0.291	0.733	0.291	0.760	0.317	91
Arginina	0.233	1.426	0.573	—	—	—	—	—	—	246
Histidina	0.168	0.393	0.158	0.362	0.147	0.370	0.151	0.370	0.151	90
Valina	0.438	—	—	—	—	0.762	0.311	0.773	0.322	72

* Esta muestra se formo con una mezcla de las variedades de harinas de achiote.

— No fue determinado.

TABLA 7

CRECIMIENTO E INDICE DE EFICIENCIA PROTEINICA DE LAS RATAS ALIMENTADAS CON DIETAS A BASE DE HARINAS DE ACHIOTE DEPIGMENTADAS COMPLETAS Y DEPIGMENTADAS TAMIZADAS

Dietas	% de proteína en dieta	Aumento promedio en peso g	Alimento consumido g	Proteína consumida g	Índice de eficiencia proteínica
Harina completa de achiote s/pigmento	10.2	77	403	41.2	1.87
Harina de achiote s/pigmento y tamizada a 80 mallas	10.2	48	252	25.7	1.85
Caseína (usada como control)	10.3	118	395	40.8	2.89

Número de animales por grupo: 8 (4 hembras y 4 machos). Peso promedio inicial: 45 g. Duración del experimento: 28 días.

indujo un mejor crecimiento que el de la harina tamizada (Tabla 8), así como un mayor índice proteínico.

En la Tabla 9 se resumen los resultados correspondientes al tercer ensayo biológico. Los datos indican que es necesario agregar 0.30% de L-metionina para obtener mejor peso y mayor utilización proteínica. Los datos también demuestran que estos parámetros no mejoraron al agregarse junto con metionina, triptofano y lisina.

Finalmente, la digestibilidad aparente de la harina de la semilla del achiote es de 57%, y aumentó a 65% al tamizar la harina de la semilla, eliminando así un poco de cáscara. La digestibilidad de la caseína fue de 94%.

DISCUSION

La semilla del achiote ha sido utilizada desde hace algún tiempo como fuente de sustancias colorantes en la industria de alimentos tales como la del queso (2), para la coloración de la yema del huevo de gallina, y como colorante en el ahumado de pescado (13), así como en la elaboración de margarinas (13). En Guatemala, la pasta de achiote es también muy utilizada como colorante en la preparación de ciertos alimentos típicos, por ejemplo, los tamales, el tiste y otros.

Los usos que se le pueden dar a la semilla dependen de su composición química, y su posible utilización sería como alimento para la industria animal. En este sentido se ha hecho muy poco. Squibb, Guzmán y Scrimshaw (4) señalaron que la semilla del achiote contenía niveles altos de carbohidratos, y postularon la posibilidad de que pudiera reemplazar al maíz en dietas para pollos. Posteriormente, en otro estudio, Squibb, Méndez y Scrimshaw (7) concluyeron que, en efecto, la harina de semilla de achiote puede reemplazar entre el 30 y el 50% del maíz en la dieta. No obstante, el peso final de los pollos fue menor conforme el nivel de harina de la semilla de achiote se incrementaba en la dieta. Los autores, sin embargo, no dieron ninguna explicación a este efecto. Los hallazgos del presente estudio podrían explicar los datos obtenidos por dichos investigadores (7).

En primer lugar, los análisis de composición química de la semilla de achiote indican que es un material de alto contenido en carbohidratos, pero no al grado en que lo es el maíz. La semilla de achiote, ya sin el pigmento, contiene un menor nivel de carbohi-

TABLA 8

CRECIMIENTO DE INDICE DE EFICIENCIA PROTEINICA DE LAS RATAS ALIMENTADAS CON LA DIETA A BASE DE HARINA DE ACHIOTE COMPLETA Y CON PIGMENTO Y EL EFECTO DE LA SUPLEMENTACION CON METIONINA Y LISINA EN LAS DIETAS A BASE DE HARINAS DE ACHIOTE COMPLETAS Y DEPIGMENTADAS

Dietas	% de proteína en dietas	Aumento promedio en peso g	Alimento consumido g	Proteína consumida g	Indice de eficiencia proteínica
Harina completa molida c/pigmento	10.3	21	181	18.7	1.08
Harina completa molida s/pigmento	10.9	89	395	44.6	1.99
Harina completa s/pigmento y L-lisina HCl 0.25%	10.8	86	402	43.3	1.97
Harina completa s/pigmento y L-metionina 0.20%	11.0	100	435	47.7	2.10
Harina completa s/pigmento y L-lisina HCl 0.25% + L-metionina 0.20%	10.9	92	425	46.3	2.00
Residuo del tamizaje de harina s/pigmento	9.5	68	360	34.0	1.99
Caseína	10.9	128	384	41.7	3.07

Número de animales por grupo: 8 (4 hembras y 4 machos). Peso promedio inicial: 45 g. Duración del experimento: 28 días. Dos ratas de ocho murieron en el grupo alimentado con la harina completa con pigmento.

TABLA 9
EFFECTO DE LA SUPLEMENTACION CON METIONINA, LISINA Y TRIPTOFANO SOBRE EL CRECIMIENTO
E INDICE DE EFICIENCIA PROTEINICA DE LAS RATAS ALIMENTADAS CON DIETAS A BASE DE
HARINAS DE ACHIOTE COMPLETAS Y DEPIGMENTADAS

Dietas	% de proteína en dietas	Aumento pro- medio en peso g	Alimento consumido g	Proteína consumida g	Indice de eficiencia proteínica
Harina completa s/pigmento	10.3	71	378	38.8	1.81
Harina completa s/pigmento y 0.10% L-metionina	10.3	81	414	42.6	1.88
Harina completa s/pigmento y 0.20% L-metionina	10.3	71	386	39.8	1.80
Harina completa s/pigmento y 0.30% L-metionina	10.2	84	409	41.8	2.00
Harina completa, s/pigmento 0.20% L-metionina y 0.25% triptofano	10.5	69	362	38.1	1.80
Harina completa, s/pigmento 0.20% L-metionina, 0.20% L-lisina HCl + 0.025% triptofano	10.4	80	399	41.3	1.91
Caseína	10.8	125	420	45.5	2.74

Número de animales por grupo: 8 (4 hembras y 4 machos). Peso promedio inicial: 45 g. Duración del experimento: 28 días.

hidratos solubles que el maíz por dos razones importantes. La primera la constituye el contenido de proteína, que para el achiote es de 12-16% en comparación con el del maíz, que es de 8-10%. La segunda razón es el contenido de fibra cruda, que para la harina de semilla de achiote es de 16%, mientras que el del maíz es de 4 a 5%. Sobre estas bases se puede deducir que en los estudios de Squibb, Méndez y Scrimshaw (7), al substituir el maíz por la harina de achiote, se estaba aumentando el nivel de fibra cruda en la dieta y, al mismo tiempo se reducía la cantidad de calorías. A pesar de que había un incremento en proteína, por contener la harina de achiote más que el maíz, ese aumento no compensó la pérdida en concentración energética.

No obstante, la cantidad de fibra cruda puede reducirse fácilmente en un 50% por medio de un simple cernido, lo cual resultaría también en un incremento en el contenido proteínico como los resultados del presente trabajo lo demuestran. En lo que a la composición química de la semilla de achiote se refiere, cabe señalar que es una fuente relativamente buena de fósforo, aunque baja en calcio.

Ya que el contenido de proteína es relativamente alto y puede incrementarse eliminando la cáscara, en este estudio se le prestó especial atención a la proteína. El contenido de aminoácidos esenciales revela algunos puntos de interés. En primer lugar, la proteína contiene niveles de lisina tan altos como los de la proteína de soya (14). No obstante, la cantidad de triptofano y metionina es muy baja: tan baja en triptofano como la del maíz (14), y en metionina como en la del frijol (14). Estos datos sugieren, por consiguiente, que éstos son los aminoácidos limitantes de la calidad nutritiva de la proteína. Se encontraron otros aminoácidos esenciales en niveles bajos, pero sería necesario confirmar esta información mediante nuevos estudios. Los valores de aminoácidos en la proteína del achiote, según este estudio, también podrían explicar la razón por la que Squibb, Méndez y Scrimshaw (7) encontraron menor crecimiento en los pollos al substituir el maíz por la harina de achiote. Las fuentes de proteína usadas por dichos investigadores fueron: harinas de ajonjolí, de corozo y de algodón, que son deficientes en los aminoácidos lisina (15), y metionina (15), respectivamente. Además, el maíz es bajo en lisina y triptofano. Por consiguiente, al usar harina de achiote los niveles de metionina en la dieta posiblemente eran inferiores a los requeridos por el pollo en crecimiento rápido.

Los datos biológicos de nuestro trabajo confirman en parte

las deficiencias del aminoácido en la proteína de la semilla de achiote, ya que la adición de lisina —que contiene en buena cantidad la proteína del achiote— no se tradujo en ninguna mejoría de su calidad proteínica. Esto, sin embargo, no se puede decir del triptofano, hecho sugerente de que el valor analítico no es el correcto. Estudios posteriores deberán confirmar estos hallazgos.

Por último, fue sorprendente observar la digestibilidad aparente reducida de la proteína de la semilla del achiote, con valores parecidos a los del frijol. Esto podría explicar la respuesta reducida que se obtuvo al agregarle aminoácidos, por lo que se sugiere que estos datos sean investigados más a fondo.

SUMMARY

CHEMICAL COMPOSITION, AMINO ACID CONTENT AND NUTRITIVE VALUE OF THE PROTEIN OF ANNATTO SEED (*Bixa orellana*, L.)

On several occasions, many Latin American countries have shown interest in the economic potential of industrializing the exploitation of the pigment in Annatto seed (*Bixa orellana*, L) used as a natural coloring agent in the food industry. Production of the pigment leaves the seed as a by-product, which once characterized chemically and nutritionally, could contribute to a more profitable exploitation of Annatto seed. The main objective of the present study was to obtain information in regard to this matter.

The results of chemical analyses of the seed showed a relatively high amount of protein, which fluctuated between 13 and 17%. Crude fiber levels were also high, about 16%; however, more than 50% of this fiber can be eliminated through sifting of the seed flour. This operation also increases protein content.

Annatto seeds have a high phosphorus and a low calcium content. Its protein contains adequate levels of tryptophan and lysine, but is low in methionine, isoleucine, leucine, phenylalanine and threonine. The protein quality of Annatto seed flour was about 65% that of casein, which was used as reference protein. Partly responsible for this low biological value are the amino acid deficiencies, mainly that of methionine, and the low digestibility of the protein. The latter was 57% as compared to 94% for casein, a finding which can be attributed to the crude fiber content of Annatto seed flour, since partial elimination of the fiber resulted in an increase in digestibility up to a value of 65%.

In order to utilize more effectively this potential feedstuff in combination with other feeds, further studies should confirm the amino acid deficiencies and digestibility of the Annatto seed protein.

BIBLIOGRAFIA

1. Rojas, U. **Elementos de Botánica General**. Guatemala, C. A., Tipografía Nacional, Tomo I, 1925, p. 54, Tomo III, 1936, p. 763, 1087.
2. Diemair, W., H. Janecke & D. Heusser. Pigments of *Bixa orellana*. **Naturwissenschaften**, **39**: 211, 1952.
3. Cook, D. H. & J. H. Axtmayer. Nutritional studies of the foodstuffs used in the Puerto Rican dietary. IV. The extract of the annatto seed, *Bixa orellana*: its preparation and physiological properties. **Am. J. Trop. Med.**, **14**: 61-75, 1934.
4. Squibb, R. L., M. Guzmán & N. S. Scrimshaw. Carotene and riboflavin retention and serum vitamin levels in vitamin A depleted rats fed four forage meals, achiote meal, and African palm oil. **Turrialba**, **3**(3): 91-94, 1953.
5. De Jesús, P. I. & R. Lim. Biological assay of annatto for vitamin A activity. **Acta Med. Philippina**, **5**: 29-36, 1948.
6. Santamaría, L., M. L. Martínez & C. F. Asenjo. Nature of the vitamin A activity of annatto seed (*Bixa orellana* L.). **J. Agric. Univ. Puerto Rico**, **49**: 259-268, 1965.
7. Squibb, R. L., J. Méndez & N. S. Scrimshaw. Valor de las harinas de camote y achiote en raciones para aves de corral. **Turrialba**, **3**(4): 163-166, 1953.
8. Association of Official Agricultural Chemists. **Official Methods of Analysis of the AOAC**. 9th ed. Washington, D. C., The Association, 1960, 832 p.
9. Fiske, C. H. & Y. Subbarow. The colorimetric determination of phosphorus. **J. Biol. Chem.**, **66**: 375-400, 1925.
10. Moss, M. L. & M. G. Mellon. Colorimetric determination of iron with 2, 2'-bipyridyl and with 2, 2', 2''-terpyridyl. **Ind. Eng. Chem. Anal. Edition**, **14**: 862-865, 1942.
11. Hamilton, L. F. & S. G. Simpson. **Talbot's Quantitative Chemical Analysis**. 9th ed. New York, MacMillan Co., 1946, p. 355-359.
12. Steele, B. F., H. E. Sauberlich, M. S. Reynolds & C. A. Baumann. Media for *Leuconostoc mesenteroides* P-60 and *Leuconostoc citrovorum* 8081. **J. Biol. Chem.**, **177**: 533-544, 1949.
13. **Food Industries Manual**. 9th ed. London, Leonard Hill (Books) Ltd., 1962.

14. Orr, M. L. & B. K. Watt. **Amino Acid Content of Foods**. Washington, D. C., U. S. Department of Agriculture, 1957. (Home Economics Research Report No. 4), 41 p.
15. Hegsted, D. M., R. C. Mills, C. A. Elvehjem & E. B. Hart. Choline in the nutrition of chicks. **J. Biol. Chem.**, **138**: 459-466, 1941.
16. Manna, L. & S. M. Hauge. A possible relationship of vitamin B₁₃ to orotic acid. **J. Biol. Chem.**, **202**: 91-96, 1953.

BREAST MILK CONSUMPTION IN RURAL COSTA RICA

Rachel Novotny¹ and Leonardo J. Mata²

Cornell University, Ithaca, N. Y., USA, and Instituto de Investigaciones en Salud (INISA), San José, Costa Rica

SUMMARY

Breast milk consumption was measured in 20 breast-feeding infants, aged two days to six months. This was achieved by test-weighing infants before and after every feeding over a 24-hour period. Infant length, weight, number of breast-feedings, and time spent sucking were also measured. The mean consumption among 10 full breast-feeders (no supplementation) was 639 ± 214 ml/day at a mean age of 42 ± 36 days, and 396 ± 249 ml/day at a mean age of 95 ± 53 days for ten breast-feeders receiving supplements (partial breast-feeders). Significant correlations were found between the number of feedings per day and breast milk consumption (ml/day) when examining all twenty infants ($r = 0.788$, $p < 0.01$) and the ten partial breast-feeders ($r = 0.903$, $p < 0.01$), but not the ten full breast-feeders ($r = 0.431$). Correlations between the time sucking per day (min/day), and breast milk consumption (ml/day), were again significant for all twenty infants ($r = 0.576$,

Manuscrito modificado recibido 1-3-82.

- 1 Graduate Research Assistant, Division of Nutritional Sciences, MVR, Room 409, Cornell University, Ithaca, N. Y., 14853, USA.
- 2 Director, Instituto de Investigaciones en Salud (INISA), Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica.

$p < 0.01$) and partial breast-feeders ($r = 0.728$, $p < 0.02$), but not for full breast-feeders ($r = 0.357$). The weight-for-length ratio for full breast-feeders ranged from 94 to 135% of the 50th percentile of the National Center for Health Statistics (NCHS) curves, while for partial breast-feeders it ranged from 103 to 141%. Both groups show adequate growth in this poor, rural area of Costa Rica.

INTRODUCTION

There has been renewed concern over the adequacy of the quantity of breast milk consumed by infants of poor mothers in developing countries (1, 2). However, bottle-feeding and early introduction of supplemental foods in impoverished environments is well associated with increased morbidity and mortality due to a higher risk of infection and malnutrition (3-5). It is the objective of this study to examine the breast milk consumption and anthropometric status of rural Costa Rican infants.

METHODS

Population

Six communities in the area of Puriscal, Costa Rica, were studied. All localities are within 48 kilometers of Santiago, municipal seat of Puriscal; Santiago is 1,105 meters above sea level, but some localities were about 350 m in altitude. Dwellings are generally dispersed and accessible by dirt roads or trails.

The socioeconomic status of Puriscal residents is low and representative of many rural areas of the country. Men usually work in agriculture (corn, beans, coffee, and tobacco), and women in domestic chores. Most homes have latrines, some of which may not be sufficiently distant from the water supply—stream, well, or piped water system. Cooking is generally done over an elevated firewood hearth. Although the sleeping arrangements varied, parents and infant often slept in one bed and other children in another bed or on the floor.

Twenty breast-fed infants less than six months of age were studied between February and October 1978. These infants represent all but three of all breast-fed infants of this age range in the study area at the time of our investigation. We estimate that

there were 35 other infants less than six months of age who were not breast-feeding. Two mothers chose not to participate and another one was not visited due to hospitalization of the infant. Ten of the 20 infants were fully breast-fed (no water, breast milk substitute, juice, or other foodstuff) and 10 received a partial breast milk diet. This partial diet varied considerably from infant to infant, irrespective of age, and daily supplementary foods varied from one bottle of sugared instant milk to multiple portions of soup, bread, and fruit. (A food scale, accurate to one gram, was used to measure the weights of infant foods consumed, but results are rough due to small intakes and home-made foods. Thus, no caloric estimates were made).

Technique

All measurements were made in duplicate by the same worker (R. N.). Milk consumption was measured by test-weighing over a period of 24 hours. Disposable diapers were worn by the infant at all times and identical clothing was worn at weighings before and after breast-feeding. The difference of the two weighings was assumed to be the amount of milk consumed. Infants were weighed nude (or with a cotton undershirt) on one occasion for anthropometric analyses. A Detecto Infant gram scale was used for all weighings, measuring to one gram. Length was measured to the half centimeter with an infant meter and the assistance of the mother.

RESULTS

Breast Milk Consumption

Fully breast-fed infants consumed considerably more breast milk than partially breast-fed infants (Table 1), 639 ± 214 ml/day at 42 ± 36 days and 396 ± 249 ml/day at 95 ± 53 days, respectively. Infants were fed on demand day and night and were kept at the breast as long as they were sucking. Fully breast-fed infants fed more often and for a longer time than partially breast-fed infants (9 ± 2 feedings/day for 76 ± 31 min/day and 6 ± 3 feedings/day for 66 ± 45 min/day, respectively). The number of feedings per day was significantly correlated with breast milk consumption (ml/day) when examining all 20 infants and the 10 partial breast-

TABLE 1

MILK CONSUMPTION BY BREAST-FED INFANTS 0-6 MONTHS
OF AGE. PURISCAL, COSTA RICA, 1978

Case	Age, days	Feedings per day	Time sucking min per day	Milk consumption, ml per day
<i>Fully breast-fed</i>				
1	2	8	20	206
2	11	10	77	721
3	13	11	93	1043
4	14	9	120	434
5	14	8	70	727
8	44	13	130	657
10	45	8	68	608
12	72	8	78	711
15	101	6	51	494
16	103	9	55	789
<i>Mixed-fed</i>				
6	26	9	103	567
7	43	7	62	593
9	44	9	175	756
11	51	3	37	84
13	75	4	62	172
14	93	4	30	103
17	125	4	42	457
18	134	7	66	485
19	170	3	21	73
20	184	10	61	665
<i>Mean ± Standard Deviation</i>				
Fully breast-fed	42 ± 36	9 ± 2	76 ± 31	639 ± 214
Mixed-fed	95 ± 53	6 ± 3	66 ± 45	396 ± 249

feeders, but not the ten full breast-feeders (Table 2). The same pattern was found when correlating the time sucking per day and breast milk consumption (ml/day). Significant correlations were found for all 20 infants, and the 10 partially breast-fed infants, but not for the ten fully breast-fed infants. Nine of the ten mixed-fed infants were receiving reconstituted, whole, powdered milk by bottle (the exception was case 20). Milk was provided gratis as part of the national food distribution program, and was generally prepared with sugar and extra water from that indicated on the package.

TABLE 2

CORRELATIONS OF NUMBER OF BREAST-FEEDINGS, TIME SUCKING, AND BREAST MILK CONSUMPTION OF INFANTS 0-6 MONTHS OF AGE (PURISCAL, COSTA RICA, 1978)

Correlation	Type breast-feeding	No. of infants, N	Correlation coefficient, r	Significance level (α), $p <$
Number of feedings/day and breast milk consumption (ml/day)	Full and partial	20	0.788	0.01
	Full only	10	0.431	not significant
	Partial only	10	0.903	0.01
Time Sucking (min/day) and breast milk consumption (ml/day)	Full and partial	20	0.576	0.01
	Full only	10	0.357	not significant
	Partial only	10	0.728	0.02

Infant Anthropometry

Full and partial breast-feeders showed comparable rankings on the NCHS growth curves, although fully breast-fed infants were

younger (Table 3). The per cent of weight-for-age values were always greater than 86, length-for-age values were greater than 91%, and weight-for-age values were greater than 94% of the standard.

DISCUSSION

Breast-feeding appears to be adequate in the first six months as analyzed by the anthropometric measurements of weight-for-age, length-for-age, and weight-for-length. An adequate growth status was being maintained with a consumption of 639 ± 214 ml/day at 42 ± 36 days of age for fully breast-fed infants, the oldest of which was 3.5 months (Table 1).

It is possible that the presence of the field worker may have interfered with the emotionally-sensitive let-down reflex of the mother, thus decreasing breast milk output (8). The study, however, began with three-day test-weighings and an average variation in breast milk consumption of only 22 ml/day over the three days (9). This stable volume suggests that the one-day measurement is characteristic. Furthermore, the field worker had all personal needs cared for, inflicting as little extra work on the mother as possible, and the 24-hour stay insured that no feedings were missed.

Circumstances of maternal undernutrition have been associated with decreased breast milk output, usually after three months (10). The 639 ml/day volume consumed by fully breast-fed infants was at a mean age of 42 ± 36 days, compared to the recommended 850 ml/day determined by feeding infants pasteurized breast milk from a bottle (11, 12). This determination differs from breast-feeding in two major ways. First, the milk no longer changes composition during the feed; the high fat content of the last milk in a feed (the hind milk) is thought to be important in curbing appetite and limiting the feed (3). Second, it is much easier to obtain milk from a bottle than the breast (3). Both of these factors could increase the intake, thus the recommendation, above the need.

The significance of the correlations between the number of feedings, time sucking and breast milk consumption are unclear. One would expect a linear increase of breast milk consumption with time at the breast as milk is produced by a hormonal process which is initiated by the sucking stimulus. Nevertheless, it appears

TABLE 3
 ANTHROPOMETRIC CHARACTERISTICS OF 20 INFANTS
 0-6 MONTHS OF AGE
 Puriscal, Costa Rica, 1978

Case	Age, days	Sex	Weight, g	Length, cm	Weight	Length	Weight
					/age	/age	/length
Per cent of standard ^a							
1	2	f	3134	49.1	94	100	94
2	11	m	4300	53.0	116	100	113
3	13	m	4408	51.2	116	96	126
4	14	f	3135	49.0	86	94	94
5	14	m	3478	49.4	92	93	109
8	44	f	5168	55.2	121	100	121
10	45	f	4605	50.3	107	91	135
12	72	f	5792	59.5	121	104	107
15	101	f	6063	61.0	109	100	105
16	103	f	6972	61.4	123	100	117
<i>Mixed-fed</i>							
6	26	m	3657	50.4	88	91	112
7	43	f	4431	52.5	102	96	119
9 ^b	44	m	3555	49.2	77	88	113
11	51	f	5400	57.4	120	102	113
13	75	f	5580	56.8	114	98	119
14	93	f	5512	59.0	102	98	104
17	125	m	7480	62.7	112	98	121
18	134	m	8190	60.6	121	94	141
19	170	m	8038	66.5	113	100	105
20	184	f	7839	67.9	107	103	103

^a National Center for Health Statistics, 50th percentile (7).

^b A preterm infant.

that other factors are involved, perhaps the intensity of sucking, the let-down reflex, or the maternal nutritional status, as correlations for full breast-feeders were not significant, although in the

expected direction.

As the supplemental milk was usually obtained from the Costa Rican food distribution program, and was generally prepared differently from the directions, the program might consider pictorial directions or demonstrations of milk preparation at the health posts.

More research on maternal nutritional status during full breast-feeding must be undertaken to determine the adequacy of breast-feeding for mother and infant. In circumstances of maternal undernutrition, it would be logical to supplement the mother rather than the infant to minimize cost and avoid the health risks of infant supplementation (3-5).

Although the sample studied is small, it represents practically all breast-fed infants in the localities studied within a six-month span. Since this study was conducted, an intervention at the hospital (skin-to-skin interaction and partial rooming-in) has resulted in a significant increase as well as a greater duration of breast-feeding. Preliminary analysis revealed that most infants fully breast-fed exhibit adequate growth velocity by six months of age (13).

Rural Costa Rica is changing culturally and nutritionally (14). Evidence from various studies suggest that breast-feeding in the first six months is important to insure the adequate growth seen in this poor rural population (3-5).

RESUMEN

CONSUMO DE LECHE MATERNA EN EL MEDIO RURAL DE COSTA RICA

Se evaluó el consumo de leche materna en 20 lactantes cuyas edades fluctuaban entre dos días y seis meses. El procedimiento utilizado se basó en pesar a los niños antes y después de cada mamada por un período de 24 horas. El peso, la talla, el número de mamadas, y la duración de cada mamada, también fueron evaluados. La media de consumo entre los 10 lactantes cuya alimentación consistió únicamente de leche materna (lactancia exclusiva) fue de 639 ± 214 ml/día con la media de edad de 42 ± 36 días, y 396 ± 249 ml/día con la media de edad de 95 ± 53 días en los 10 niños que recibieron una dieta mixta (alimentos además de la leche materna).

Se encontraron correlaciones significativas entre el número de mamadas por día y el consumo de leche materna (ml/día) en los 20 lactantes

($r = 0.788$, $p < 0.01$) y en los 10 lactantes con dieta mixta ($r = 0.903$, $p < 0.01$) pero no así ($r = 0.431$) en los 10 lactantes exclusivos. La correlación entre la duración de las mamadas (min/día) y el consumo de leche materna (ml/día) también fue significativa en los 20 lactantes ($r = 0.576$, $p < 0.01$) y en los 10 lactantes con dieta mixta ($r = 0.728$, $p < 0.02$), pero no así en el caso de los 10 lactantes exclusivos ($r = 0.357$). En relación al peso para la talla, los niños que recibieron lactancia exclusiva tuvieron un porcentaje entre 94-135 de peso para talla tomando como referencia el percentil 50 de las curvas utilizadas por el Centro Nacional de Estadísticas Sobre Salud (National Center for Health Statistics), mientras que los valores encontrados en los niños que recibieron una dieta mixta fueron de 103 a 141%. Ambos grupos acusaron un crecimiento adecuado, no obstante que los niños bajo estudio pertenecen a una zona rural pobre en Costa Rica.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors wish to thank the support received by the staff of the Instituto de Investigaciones en Salud (INISA) of the University of Costa Rica and of the Associated Colleges of the Midwest (ACM) Costa Rica. They also acknowledge the collaboration of the people of Puriscal, Costa Rica, who accepted participation in the study. Support was received from the U. S. AID loan to the Costa Rican Government No. 515-T-026.

BIBLIOGRAPHY

1. Rowland M. G. M. & R. G. Whitehead. Lactation and infant nutrition. *Br. Med. Bull.*, **37**: 77-82, 1981.
2. Waterlow, J. C. & A. M. Thomas. Observations on the adequacy of breast-feeding. *Lancet*, **2**: 238-242, 1979.
3. Jelliffe, D. B. & E. F. P. Jelliffe. *Human Milk in the Modern World*. Oxford, Oxford University Press, 1978, p. 241-299.
4. Mata, L. J. El valor incomparable de la leche materna. *Bol. Of. San. Pan.*, **71**: 60-70, 1971.
5. Thomson, A. M. & A. E. Black. Nutritional aspects of human lactation. *Bull. WHO*, **52**: 163-176, 1965.
6. Snedecor, G. W. & W. G. Cochran. *Statistical Methods*. 7th ed. Ames, Iowa, The Iowa State University Press, 1980, p. 477.
7. Hamill, P. V., T. A. Drizd, C. L. Johnson, R. B. Reed, A. F. Roche & W. M. Moore. Physical growth: National center for health statistics

- percentiles. *Am. J. Clin Nutr.*, **3**: 607-629, 1979.
8. Newton, N. R. & M. Newton. Relation of the let-down reflex to the ability to breast-feed. *Pediatrics*, **5**: 726-733, 1950.
 9. Novotny, R., L. Mata & H. Brenes. Consumo de leche por lactantes del área rural de Puriscal, Costa Rica, 1978. *Rev. Méd. Hosp. Nal. Niños, Costa Rica*, **15**: 45-58, 1980.
 10. Jelliffe, D. B. & E. F. P. Jelliffe. The volume and composition of human milk in poorly nourished communities. A review. *Am. J. Clin. Nutr.*, **31**: 492-515, 1978.
 11. National Research Council. *Recommended Dietary Allowances*. 9th ed. Washington, D. C., National Academy of Sciences, 1980, p. 27.
 12. Fomon, S. J. & C. D. May. Metabolic studies of normal full-term infants fed pasteurized human milk. *Pediatrics*, **22**: 101-115, 1958.
 13. Mata, L., S. Murillo, P. Jiménez, M. A. Allen & B. García. Child feeding in less developed countries. Induced breast-feeding in a transitional society. In: *Clinical Disorders in Pediatric Nutrition*. F. Lifshitz (Ed.). New York, Marcel Gekkar Inc., 1981. In press.
 14. Mata, L. J. & E. Mohs. Cambios culturales y nutricionales en Costa Rica. *Bol. Méd. Hosp. Inf.*, **33**: 579-593, 1976.

GLOBULINA LIGANTE DE HORMONAS SEXUALES EN PUERPERAS Y SUS RECIEN NACIDOS CON DESNUTRICION INTRAUTERINA

Santiago Muzzo¹, Abraham Zvaighaft² y Patricio Cañas³

Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos
Universidad de Chile, Santiago, Chile

RESUMEN

Se estudió la capacidad de unión de los estrógenos a la globulina ligante sérica en puérperas y sus recién nacidos que presentaban desnutrición intrauterina. Las muestras de sangre se obtuvieron de una vena periférica dentro de las tres primeras horas post-parto en las madres, y del cordón umbilical en los recién nacidos. La globulina ligante se midió de acuerdo a la técnica de Mickelson y Petra. Se encontró que las madres de recién nacidos desnutridos tenían disminuida la capacidad de unión de la dehidrotestosterona (DHT) a la globulina sérica, en comparación a las madres de recién nacidos adecuados para su edad gestacional (10.63 ± 1.61 vs 19.25 ± 2.18 μg DHT/dl suero, respectivamente), mientras que los recién nacidos desnutridos la tenían aumentada

Manuscrito modificado recibido: 14-12-82.

- 1 Jefe, Unidad de Endocrinología, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA), Casilla 15138, Santiago 11, Chile.
- 2 Instructor Segundo, de la citada Unidad.
- 3 Ayudante Primero, Unidad de Bioquímica, INTA.

en contraste con los recién nacidos adecuados para su edad gestacional (1.01 ± 0.24 vs 0.77 ± 0.18 , respectivamente). Estos resultados sugieren que por descenso en la producción de los precursores adrenales fetales de estrógenos, las madres de recién nacidos desnutridos *in utero* tienen disminuida la globulina ligante de hormonas sexuales, lo que podría ser un mecanismo compensatorio para aumentar el flujo placentario.

INTRODUCCION

Es un hecho conocido que la mayor parte de los estrógenos circulan unidos a una globulina plasmática, llamada globulina ligante de hormonas sexuales, la cual une tanto estrógenos como andrógenos (1). Del total de los estrógenos plasmáticos sólo el 3-5% circula libre, el cual es el que ejerce su acción sobre la célula blanco (2). Se acepta que esta globulina ligante no sólo tiene una acción de transporte de los estrógenos, sino que también regularía la cantidad circulante de estrógenos libres (3, 4). Estudios realizados en conejas castradas al 10º día de gestación y tratadas sólo con progesterona, han demostrado que producen fetos y placentas de mayor tamaño (5), lo cual sería el resultado de una hiperplasia celular (6). Al investigar el flujo placentario con microesferas radiactivas, se ha visto que el estrógeno tiene un efecto inverso sobre el flujo placentario, es decir, a menor nivel, mayor flujo y viceversa (7). Se ha observado, asimismo, que los niveles elevados de estrógenos totales y de globulina ligante de estrógenos durante el embarazo, son producidos especialmente por la unidad feto-placentaria (8). Así, la adrenal fetal produce los precursores, y la placenta los convierte a estrógenos. Muchos de los aspectos clínicos, anatómicos y bioquímicos descritos en la desnutrición intrauterina se parecen a los hallazgos en la desnutrición postnatal temprana o calórico-proteínica (9, 10), semejanzas que para muchos investigadores sugieren que el poco crecimiento fetal es el resultado de una desnutrición fetal (11). Se ha observado, por ejemplo, que en 100% de los recién nacidos con poco peso para edad gestacional se presenta hipoglicemia sintomática (12). En la rata desnutrida *in utero* se ha descrito un menor número de células en el sistema nervioso sin recuperación al rehabilitar (13), lo que indica riesgo de daño encefálico que puede producir el crecimiento inadecuado del feto dentro del útero. Por otra parte, la excreción urinaria de estrógenos totales, tanto como el peso de la placenta, están disminuidos durante el embarazo de madres que tienen re-

cién nacidos con desnutrición intrauterina, en comparación con embarazos normales de igual edad gestacional (14, 15). También se ha demostrado que las mujeres embarazadas con fetos anencefálicos excretan pequeñas cantidades de estrógenos urinarios, lo que correlaciona con la poca cantidad de tejido adrenal existente en estos fetos (16).

Dada la posible influencia del nivel de estrógenos en el crecimiento fetal a través de su acción en el flujo placentario, nos interesó determinar qué cantidad de estrógenos circula unida a la globulina ligante, en la puérpera y en su recién nacido con desnutrición intrauterina.

MATERIAL Y METODOS

Se definió como desnutrido intrauterino al recién nacido cuyo peso corporal estaba por debajo del percentil 10 de la Tabla de Lubchenko para edad gestacional. La mayoría fueron recién nacidos a término, pequeños para su edad gestacional, no existiendo siempre igual intensidad en el compromiso de la talla. Se descartaron aquéllos con malformaciones congénitas evidentes y otras patologías causantes de desnutrición intrauterina como las cardíacas y del sistema nervioso central, entre otras. Se usaron como testigo los recién nacidos a término cuyo peso corporal era adecuado para la edad gestacional. Además, se estudiaron las madres de ambos grupos de niños. Se recolectaron muestras de sangre de las madres dentro de las tres primeras horas post-parto, y del cordón umbilical de los recién nacidos antes de que fuera ligado. Se extrajeron los sueros, y se guardaron congelados a -20°C durante un período de 4 a 8 semanas, hasta su procesamiento. La proteína ligante sérica de hormonas sexuales se midió de acuerdo al método descrito por Mickelson y Petra (17). El principio de este método se basa en la absorción del complejo de la proteína ligante sérica de hormonas sexuales con dihidrotestosterona tritida (DHT- H_3)⁴ en discos de papel filtro de dietilaminoetil-celulosa⁵, lo que se produce por el punto isoelectrico ácido de la proteína ligante (18). Una alícuota del suero del paciente se incubó con DHT- H_3 a 25°C por 15 minutos; 100 μl de la muestra se coloca-

4 5α -Dihidrotestosterona $1,2\text{-}^3\text{H}$ (55 Ci/m mol) Amersham/Searle.

5 Filtros Whatman Grado DE-81 (2, 3 cm de diámetro).

ron en los discos de papel filtro de celulosa y se lavaron con una solución buffer.

Los discos se colocaron en frascos con 10 cc de líquido de centelleo (4.2 g PPO, 0.04 g POPOP, 69.8 g naftaleno, 300 cc xilol, 300 cc dioxano, 330 cc etanol absoluto) y se contaron en un contador de centelleo líquido Nuclear Chicago, Marck I, con una eficiencia de 33 a 35%. La significancia de los resultados de RN-AEG y de RN-PEG entre las madres, y entre los RN-AEG y RN-PEG se analizaron estadísticamente por la prueba de "t" de Student.

RESULTADOS

En la Tabla 1 se observan los valores de globulina ligante de hormonas sexuales expresadas como μg DHT unida/dl suero. Las madres que dieron a luz recién nacidos con peso adecuado para la edad gestacional tuvieron valores significativamente más altos que aquéllas cuyos recién nacidos eran pequeños para su edad gestacional (13.25 ± 2.18 vs 10.63 ± 1.61 , respectivamente; $P < 0.001$). En cambio, los recién nacidos adecuados para su edad gestacional acusaron niveles de proteína ligante de hormonas sexuales más bajos que los recién nacidos pequeños para su edad gestacional (0.77 ± 0.18 vs 1.01 ± 0.24 , respectivamente; $P < 0.005$). Existió mayor tendencia a la hemólisis en las muestras de los recién nacidos desnutridos, los que fueron eliminados del estudio, lo que explica la diferencia en el número de madres y recién nacidos.

Los niveles de globulina ligante de hormonas sexuales de las madres embarazadas a término fueron alrededor de 12 veces mayores que los niveles de los recién nacidos a término, adecuados a su edad gestacional, lo que concuerda con los valores descritos en la literatura.

DISCUSION

Los niveles de globulina ligante de hormonas sexuales de mujeres normales en el puerperio inmediato, medidos en el presente estudio, son discretamente inferiores a los descritos en la literatura para mujeres embarazadas a término (13.25 vs 14.17 μg DHT unido/dl, respectivamente). En cambio, los valores de recién nacidos coinciden con lo descrito en la literatura, es decir, tienen

TABLA 1
GLOBULINA LIGANTE DE HORMONAS SEXUALES
(μ g DHT unido/dl de suero)

	Promedio	Desviación estándar	No. de casos	p ^c
Madres de RN-AEG	13.25	2.18	24	
Madres de RN-PEG	10.63	1.61	20	< 0.001
RN-AEG ^a	0.77	0.18	23	
RN-PEG ^b	1.01	0.24	14	< 0.005

^a RN-AEG = Recién nacido - adecuado para la edad gestacional.

^b RN-PEG = Recién nacido - pequeño para la edad gestacional.

^c Significancia entre las madres de RN-AEG vs de RN-PEG y entre los RN-AEG vs RN-PEG.

niveles semejantes, sin diferencia de sexo e iguales al del hombre adulto (17).

Se sabe que los altos niveles de estrógenos presentes durante el embarazo son producidos especialmente por la unidad feto-placentaria. Las adrenales fetales producen precursores de estrógeno como el sulfato de dehidroepiandrosterona, los cuales son transformados a estrógenos en la placenta (8).

Asimismo, es sabido que el funcionamiento del eje hipotálamo hipofisario-suprarrenal fetal comienza en los primeros meses de gestación, siendo independiente al de la madre (19). Además, también se sabe que la desnutrición intrauterina en animales de experimentación producen una atrofia suprarrenal (10) posiblemente por falta de estimulación por la ACTH hipofisaria. Así, se ha descrito una importante atrofia suprarrenal (16), en fetos anencefálicos, en los que hay déficit global de hormonas hipofisarias. En la literatura se informa además, que las placentas de embarazadas con desnutrición durante la gestación son de peso inferior a lo normal, y tienen un menor número de células (20). Como se sabe, la síntesis de globulina ligante de hormonas sexuales se efectúa en el hígado, y su producción es estimulada por los mayores niveles de estrógenos, e inhibida por altos niveles de andrógenos (1).

El hecho de encontrar disminuidos los niveles de globulina

ligante de hormonas sexuales en madres que tuvieron hijos pequeños para su edad gestacional, podría indicar una menor síntesis hepática de esta proteína. En la literatura se describe que los estrógenos urinarios de madres con fetos con desnutrición intrauterina se encuentran disminuidos más o menos en un 40% (21), mientras que los estrógenos unidos, a juzgar por los niveles de globulina ligante descritos por nosotros, tendrían un descenso de menor cuantía; ello haría sospechar que los estrógenos libres estarían también disminuidos. Dado que se piensa que los niveles de estrógenos libres tienen un efecto inverso sobre el flujo placentario, esto sugeriría que el descenso de estrógenos en la desnutrición intrauterina podría estar jugando un rol, aumentando el flujo placentario para compensar la alteración de crecimiento fetal. Por otro lado, el incremento de la globulina ligante en los fetos desnutridos podría deberse a un aumento en la producción de estrógenos o a una disminución en la producción de andrógenos por parte de las adrenales fetales. Dado el hecho que la desnutrición intrauterina produce una disminución del tamaño de las adrenales fetales, parece más posible un descenso en la producción de hormonas suprarrenales fetales, como consecuencia de una menor estimulación por la ACTH hipofisiaria fetal. Esta menor secreción de hormonas suprarrenales fetales produciría una menor entrega de precursores como el sulfato de dehidroepiandrosterona a la placenta, con la consecuente menor formación de estrógenos.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en este trabajo señalarían que la globulina ligante de hormonas sexuales podría ser un buen indicador de desnutrición intrauterina. A la vez, el descenso de esta globulina en madres de recién nacidos pequeños para su edad gestacional, podría indicar un mecanismo de compensación en la desnutrición intrauterina.

SUMMARY

SEX HORMONE BINDING GLOBULIN IN MOTHERS AND THEIR INTRAUTERINE MALNOURISHED NEWBORNS

The purpose of this research was to study the binding capacity of

estrogens to the sex hormone-binding globulin (SHBG) in mothers and their intrauterine malnourished newborns. Blood samples were obtained from mothers at delivery, and from babies, of the umbilical cord. SHBG was measured according to the method of Mickelson and Petra. It was found in mothers of malnourished babies that the binding capacity of serum protein to dehydrotestosterone (DHT) was significantly decreased in comparison to the controls (10.63 ± 1.61 vs 13.25 ± 2.18 $\mu\text{g DHT/dl serum}$, respectively), whereas it was significantly increased in intrauterine malnourished newborns (1.01 ± 0.24 vs 0.77 ± 0.18 , respectively). These results suggest that SHBG decrease in mothers of intrauterine malnourished newborns occurs due to a decrease in the production of fetal adrenal hormone precursors and may, therefore, be a compensating mechanism to increase placental flow.

BIBLIOGRAFIA

1. Anderson, D. C. Sex-hormone-binding globulin. *Clin. Endocrinol.*, **3**: 69-96, 1974.
2. Burke, C. W. & D. C. Anderson. Sex-hormone-binding globulin is an estrogen amplifier. *Nature*, **240**: 38-40, 1972.
3. Baird, D. T., R. Horton, C. Longcope & J. F. Tait. Steroid dynamic under steady-state condition. *Recent. Progr. Hormone Res.*, **25**: 611-664, 1969.
4. Heyns, W. & P. De Moor. Kinetics of dissociation of 17β -hydroxysteroids from the steroid binding β -globulin of human plasma. *J. Clin. Endocrinol.*, **32**: 147-154, 1971.
5. Abdul-Karim, R. W., R. E. L. Nesbitt Jr., M. H. Drucker & P. T. Rizk. The regulatory effect of estrogens on fetal growth. I. Placental and fetal body weights. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, **109**: 656-661, 1971.
6. Beydoun, S. N., R. W. Abdul-Karim & M. E. Haviland. The regulatory effect of estrogens on fetal growth. III. Placental deoxyribonucleic acid, ribonucleic acid and proteins. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, **120**: 918-921, 1974.
7. Abdul-Karin, R. W. & N. W. Bruce. The regulatory effect of estrógens on fetal growth. II. Uterine and placental blood flow in rabbits. *J. Reprod. Fert.*, **30**: 477-480, 1972.
8. Amoroso, E. C. Placentation. En: *Physiology of Reproduction*. A. S. Parkers (Ed.). London, Marshall's Longmans Green and Co., 1952, p. 127-143.
9. McBurney, R. D. The undernourished full term infant: A case report. *West. J. Surg. Obstet. Gynecol.*, **55**: 363-368, 1947.
10. Naeye, R. L. Malnutrition: Probable cause of fetal growth retardation.

- Arch. Pathol.**, **79**: 284-291, 1965.
11. Scott, K. E. & R. Usher. Fetal malnutrition: Its incidence, causes and effects. **Am. J. Obstet. Gynecol.**, **94**: 951-963, 1966.
 12. Neligan, G. A., E. Robson & J. Watson. Hypoglycemia in the newborn: A sequel of intrauterine malnutrition. **Lancet**, **1**: 1282-1284, 1963.
 13. Zamenhof, S., E. Van Marthens & F. L. Margolis. DNA (cell number) and protein in neonatal brain: Alteration by maternal dietary protein restriction. **Science**, **160**: 322-323, 1968.
 14. Shoerman, R. P. Some aspects of the urinary excretion of pregnadiol in pregnancy. **J. Obstet. Gynecol. Br. Emp.**, **66**: 1-11, 1959.
 15. Winick, M. & A. Noble. Quantitative changes in ribonucleic acids and protein during normal growth of rat placenta. **Nature**, **212**: 34-35, 1966.
 16. Benirshke, K. Adrenals in anencephaly and hydrocephaly. **Obstet. Gynecol.**, **8**: 412-425, 1956.
 17. Mickelson, K.E. & P.H. Petra. A filter assay for the sex steroid binding protein (SBP) of human serum. **Febs Letters**, **44**: 34-38, 1974.
 18. VanBaelen, H., W. Heyns & P. De Moor. Microheterogeneity of the testosterone binding globulin of human pregnancy serum demonstrated by isoelectric focusing. **Ann. Endocrinol. (Paris)**, **30**: 199-203, 1969.
 19. Grumbach, M. M. & S. L. Kaplan. Ontogenesis of growth hormone, insulin, prolactin and gonadotropin secretion in the human fetus. En: **Foetal and Neonatal Physiology**. Cambridge, Mass., Cambridge University Press, 1973, p. 462-487.
 20. Winick, M. Cellular growth of human placenta. III. Intrauterine growth failure. **J. Pediat.**, **71**: 390-395, 1967.
 21. Yousem, H., J. Seitchick & D. Solomon. Maternal estriol excretion and fetal dismaturity. **Obstet. Gynecol.**, **28**: 491-494, 1966.

DESNUTRICION INFANTIL: COSTO SOCIAL POR PATOLOGIA RESPIRATORIA Y DIGESTIVA

Eduardo Atalab S.¹, Patricia Bustos M.¹ y Elena Gómez A.²

Departamento de Nutrición, Facultad de Medicina,
Universidad de Chile, Santiago, Chile

RESUMEN

Con el propósito de determinar el efecto de la desnutrición sobre la frecuencia y duración de las hospitalizaciones por diarrea e infecciones respiratorias, se estudiaron 1,660 niños menores de dos años atendidos durante 1979 en el Hospital Roberto del Río.

En función del estado nutricional se calculó la tasa de hospitalización respecto a la población total del Area Norte de Santiago, la frecuencia de patología asociada e intercurrente, y el tiempo promedio de hospitalización. Los tres indicadores mostraron una alta correlación con el estado nutricional ($P \ll 0.01$) deteriorándose progresivamente en la medida que empeoraba la relación peso/edad. Al comparar el desnutrido leve con el normal, la incidencia de hospitalizaciones por diarrea aumentó nueve veces, y el tiempo de estadía en el Hospital, en 16.9% ($P < 0.001$). En el caso de infecciones respiratorias, la incidencia aumentó 2.4 veces y el tiempo de hospitalización, en 24.7% ($P < 0.001$).

Manuscrito modificado recibido: 22-4-82.

¹ Médicos Pediatras del Departamento de Nutrición, Facultad de Medicina, División de Ciencias Médicas Norte, Independencia 1027, P. 3º, Santiago, Chile.

² Nutricionista L. S. P. del citado Departamento.

Se concluye que la desnutrición provoca un exceso de hospitalización que, para estas dos patologías, se estimó en 10,609 días-cama anuales (Area Norte de Stgo.). Esto representa un costo social por encima de US\$ 300,000, cantidad que podría utilizarse provechosamente en actividades de protección y fomento de la salud y que ayudaría, por consiguiente, a incrementar los beneficios sociales para la población.

INTRODUCCION

La interrelación entre nutrición, inmunidad e infección es un hecho ampliamente reconocido (1-4). El deterioro grave del estado nutricional se acompaña de una alteración de la inmunidad celular que se traduce en una mayor frecuencia, duración e intensidad de la morbilidad infecciosa (5-7). La infección, a su vez, agrava la desnutrición a través del balance nitrogenado negativo producido por una baja ingesta de alimentos, mayores pérdidas (vómitos, diarrea) y por el efecto catabólico del "stress". Se establece así el círculo vicioso nutrición-infección, fenómeno responsable de la muerte en la mayor parte de los desnutridos avanzados (8).

A pesar de lo expuesto, existe poca información en la literatura chilena que cuantifique la magnitud de esta asociación y, menos aún, que determine cuál es el costo por este concepto. Casi todos los estudios se refieren al déficit avanzado y existen escasos antecedentes sobre desnutridos leves que representan la mayor proporción en nuestro país.

El propósito de nuestro trabajo fue analizar la relación entre frecuencia y duración de la patología respiratoria y digestiva en el menor de dos años en función de su estado nutricional, y determinar el costo de la desnutrición por este mecanismo.

MATERIAL Y METODOS

El estudio se basó en el análisis de los egresos correspondientes al año 1979 en las Unidades de Lactantes y Nutrición del Hospital Roberto del Río, único establecimiento del Area Norte de Santiago destinado a la atención infantil intrahospitalaria. El sector tiene una población estimada en 487,000 habitantes, de los cuales el 80.40/o son beneficiarios del Sistema Nacional de Salud. A través de una red de 12 consultorios periféricos se controlan

41,421 menores de seis años, lo que representa una cobertura superior al 850/o. El nivel socioeconómico de la población mayoritariamente corresponde a clase media baja, y baja, evaluado según el criterio de Graffar.

A partir de la hoja de egreso del hospital se seleccionaron los menores de dos años cuya causa básica de ingreso fuera una infección respiratoria (bronconeumonía, neumonitis, bronquiolitis, bronquitis obstructiva, etc.) o una patología digestiva (síndrome diarreico agudo con o sin deshidratación, gastroenteritis aguda, etc.).

De este mismo formulario se obtuvo: estado nutricional, el que es catalogado de acuerdo a la relación peso/edad, según el criterio de Gómez; presencia o no de patología asociada e intercurrente, y duración de la hospitalización.

Se calculó el tiempo promedio de hospitalización por edad, tipo de patología y estado nutricional, frecuencia de patología asociada e intercurrente en función de estas mismas variables, y tasa de hospitalización en el período en estudio. Este último indicador se obtuvo comparando el número de hospitalizaciones con la población total del Area de la misma edad y categoría nutricional.

El análisis estadístico se realizó por medio de la prueba "t" de Student para diferencias de muestras independientes, X^2 y análisis de varianza (9). Se aceptaron como diferencias significativas aquéllas con una $P < 0.05$.

En total, se estudiaron 1,660 hospitalizaciones cuya distribución por edad y estado nutricional se presenta en la Tabla 1. La mayor proporción corresponde a eutróficos (55.60/o) y niños menores de seis meses (50.80/o), y los desnutridos grados 2 y 3 representan menos del 200/o del total.

De acuerdo a la causa básica de ingreso, 934 corresponden a enfermedades respiratorias (56.30/o) y 726 a patología digestiva (43.70/o).

RESULTADOS

La tasa de hospitalización en función del estado nutricional se presenta en la Figura 1. Según se aprecia, en ambas patologías se produce un aumento importantísimo del riesgo de hospitalización a medida que se deteriora el estado nutricional. Para las enfermedades respiratorias la tasa es 20 veces mayor al comparar

TABLA 1

DISTRIBUCION SEGUN EDAD Y ESTADO NUTRICIONAL

Edad	Normal	Desnutridos			Total
		Grado I	Grado II	Grado III	
0 - 5	487	205	118	38	843
6 - 11	242	120	72	33	467
12 - 23	194	104	47	5	350
Total	923	429	237	71	1,660

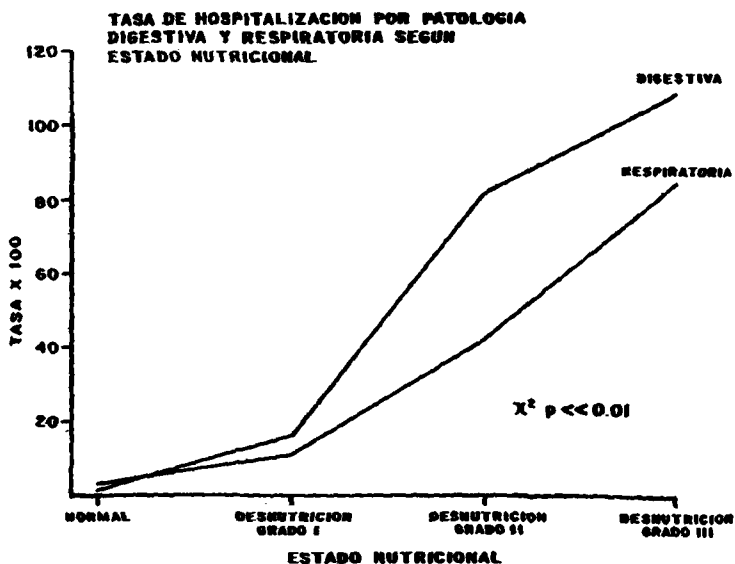


FIGURA 1

Tasa de hospitalización por patología digestiva y respiratoria, según estado nutricional

eutróficos con desnutridos avanzados ($P \ll 0.01$) y 62 veces para la patología digestiva. Destaca el hecho que ya en las formas leves se produce una mayor incidencia, especialmente en diarreas, que aumentan nueve veces al comparar el desnutrido leve con el normal ($P \ll 0.01$).

La edad influye fuertemente en la tasa de hospitalización siendo para cualquier estado nutricional muchas veces más altas en los menores de seis meses respecto a los mayores de un año (Tablas 2 y 3). En particular, ello es evidente en los casos de patología digestiva, cuya frecuencia es de 10 a 27 veces más alta en el primer semestre de vida. En cada grupo etario el efecto de la desnutrición es similar a la tendencia general ya descrita, y aún se acentúa en los menores de seis meses.

TABLA 2

TASA DE HOSPITALIZACION* POR ENFERMEDAD RESPIRATORIA,
SEGUN EDAD Y ESTADO NUTRICIONAL

Estado nutricional	Edad, en meses			Total
	0 - 5	6 - 11	12 - 23	
Normal	7.0	4.4	2.7	4.4
D. grado I	42.1	13.0	5.8	10.7
D. grado II	155.0	36.4	24.5	42.6
D. grado III	200.0	73.7	45.4	86.1
χ^2	448.1**	306.7**	211.1**	991.3**

* Tasa x 100.

** $P \ll 0.01$.

La asociación de otra patología a la causa básica de ingreso (infección urinaria, cardiopatías congénitas, reflujo gastroesofágico, etc.) se muestra claramente relacionada con el estado nutricional (Tabla 4). A mayor deterioro del peso se duplica la proporción de niños con una enfermedad asociada, lo que sugiere que el déficit nutricional puede ser de etiología secundaria.

TABLA 3

TASA DE HOSPITALIZACION* POR ENFERMEDAD DIGESTIVA,
SEGUN EDAD Y ESTADO NUTRICIONAL

Estado nutricional	Edad, en meses			Total
	0 - 5	6 - 11	12 - 23	
Normal	4.1	1.7	0.4	1.8
D. grado I	112.0	15.9	4.1	16.1
D. grado II	435.0	72.7	21.6	83.5
D. grado III	350.0	100.0	—	111.1
X ²	5,907.2**	1,285.8**	463.5**	4,418.5**

* Tasa x 100.

** $P \ll 0.01$.

TABLA 4

FRECUENCIA DE PATOLOGIA ASOCIADA A LA CAUSA DE INGRESO
SEGUN ESTADO NUTRICIONAL

Estado nutricional	Enfermedad		Total o/o
	Respiratoria o/o	Digestiva o/o	
Normal	24.2	32.8	26.8
D. grado I	34.5	36.0	35.4
D. grado II	65.0	47.8	53.6
D. grado III	54.8	62.5	59.2
X ²	60.8*	19.6*	82.7*

* $P \ll 0.01$.

La patología intercurrente se relaciona aún más fuertemente con el estado nutricional, aumentando 6.5 veces al comparar niños eutróficos con desnutridos graves (Tabla 5). Este fenómeno es especialmente importante en el caso de infecciones respiratorias e infectocontagiosas, en que la relación entre los grupos nutricionales extremos es más de 10:1 ($P \ll 0.01$).

TABLA 5

FRECUENCIA DE PATOLOGIA INTERCURRENTE
SEGUN ESTADO NUTRICIONAL

Estado nutricional	Patología intercurrente, %				Total
	Respiratoria	Digestiva	Infecto-contagiosas	Otras	
Normal	2.0	3.9	0.9	1.2	8.0
D. grado I	4.4	4.6	1.4	2.6	13.0
D. grado II	9.7	5.5	2.5	3.8	21.5
D. grado III	21.1	9.9	11.2	9.9	52.1
X ²	70.9*	6.1**	44.1*	26.1*	135.6*

* $P \ll 0.01$.

** P, NS.

El tiempo promedio de hospitalización, según tipo de patología, se presenta en la Figura 2. En ambos casos se observa un aumento progresivo del tiempo de permanencia en la medida en que el estado nutricional se deteriora, siendo aproximadamente dos veces mayor en el grado moderado respecto al normal y cuatro veces más en el avanzado ($P \ll 0.01$). Aun cuando la diferencia entre eutróficos y desnutridos leves es aproximadamente de dos días, alcanza significación estadística.

El mismo análisis en función de la existencia o no de enfermedad asociada se presenta en la Figura 3, donde se observa la misma tendencia ya descrita.

La prolongación del período de hospitalización por efecto de la desnutrición ocurre en forma similar en los casos con o sin

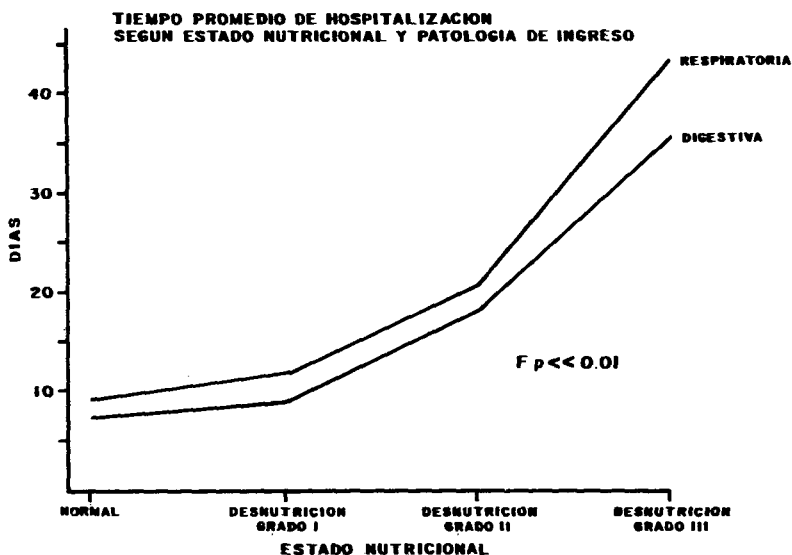


FIGURA 2

Tiempo promedio de hospitalización según estado nutricional
y patología de ingreso

patología asociada. La presencia de otra patología produce un aumento significativo de dicho tiempo de hospitalización que, en promedio, puede estimarse en 50% para los distintos estados nutricionales. La edad no representó una variable importante en la duración de hospitalización; por lo cual no se consideró. A pesar de que existe cierta tendencia a una duración un tanto mayor en el grupo de menores de seis meses, las diferencias en general no alcanzan significación estadística.

Al proyectar los mismos patrones de morbilidad observados en la población eutrófica (tasa de incidencia y duración de hospitalización) al total de desnutridos del Area Norte de Santiago, se puede establecer cuál es el tiempo de hospitalización adicional generado por la desnutrición. Esta estimación se presenta en la Tabla 6, expresada como exceso de días-cama anuales por infecciones respiratorias y digestivas, provocado por la desnutrición. En total se utilizan 10,609 días-cama adicionales, lo que equivaldría a-un servicio de 36 camas con un índice ocupacional de 80%. Prácticamente la mitad del tiempo se debe a una mayor incidencia de

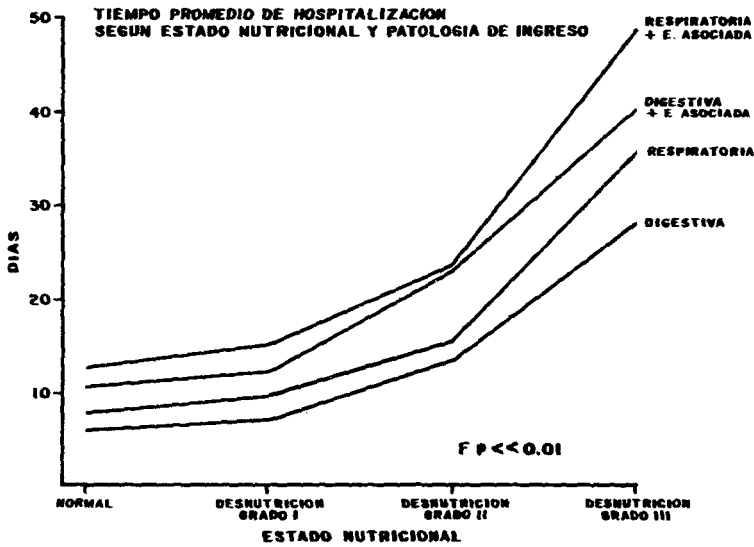


FIGURA 3

Tiempo promedio de hospitalización según estado nutricional
y patología de ingreso

TABLA 6

**EXCESO DE DIAS-CAMA ANUALES POR ENFERMEDADES
RESPIRATORIAS Y DIGESTIVAS POR DESNUTRICION,
AREA NORTE DE SANTIAGO**

Desnutrición	> Incidencia		> Duración		Total	
	ds	%	ds	%	ds	%
Grado I	2,699	25.4	729	6.9	3,428	32.3
Grado II	1,850	17.4	2,584	24.4	4,434	41.8
Grado III	580	5.5	2,167	20.4	2,747	25.9
Total	5,129	48.3	5,480	51.7	10,609	100.0

morbilidad hospitalaria, y el resto a una mayor duración (mayor intensidad). Sorprendentemente, un 32.3% del total lo determina la desnutrición leve, grupo que en general se considera de poco riesgo. Este efecto se explica fundamentalmente por la mayor incidencia de patología más que por aumento de la duración. Lo inverso ocurre en la desnutrición avanzada, en que el exceso de días-cama se produce básicamente por mayor tiempo de hospitalización.

Al analizar separadamente el impacto por tipo de patología, se demostró que el tiempo adicional se debe en un 40% a infecciones respiratorias, y el 60% restante, al síndrome diarreico.

De acuerdo a nuestras estimaciones del costo social del día-cama para la Unidad de Nutrición del Hospital Roberto del Río (10) se puede concluir que en el Area Norte de Santiago la desnutrición del menor de dos años genera por mayor frecuencia e intensidad de estas patologías, un gasto anual equivalente a US\$ 308,000.

DISCUSION

El mayor riesgo de enfermar y morir en casos de desnutrición grave está profusamente documentado. Sin embargo, no ocurre lo mismo respecto al grado leve en que la asociación es más difícil de demostrar. Romero *et al.* (11) prácticamente no observaron diferencias en el número de episodios de morbilidad detectados en el consultorio externo al comparar eutróficos con desnutridos leves. Algo similar informó Rebolledo al no detectar diferencias en la frecuencia y duración de la morbilidad ambulatoria, en función del estado nutricional de un grupo de menores de dos años (12). Al analizar morbilidad hospitalaria, sin embargo, Oto *et al.* encontraron claras diferencias en niños con bajo peso al nacer (13). La tasa de hospitalización por diarrea aguda estuvo claramente relacionada con el estado nutricional, y fue 4.5 veces mayor en los desnutridos leves en contraste con los normales. Esta última observación concuerda con la nuestra, ya que el riesgo de hospitalización por diarrea y bronconeumonía es significativamente mayor a partir del déficit leve.

La estimación de las tasas de hospitalización se obtuvo usando como denominador el censo de desnutridos del Area en diciembre de ese mismo año. A pesar de ello, tenemos evidencias que esa cifra está subestimada y no refleja con exactitud la población total de desnutridos. Existe una fuente de error determinada por error

de pesada, error de clasificación, o por sobreestimación de la población bajo control (14), y una segunda fuente debido a que la prevalencia mensual es menor que la de desnutridos controlados durante el año (15). Muchas veces la desnutrición mejora en pocos meses y no alcanza a figurar en un corte transversal en un período dado. Por último los desnutridos graves en su gran mayoría se encuentran en un centro cerrado (hospital, CONIN) y a veces no se incluyen en la estadística del consultorio externo.

Una tercera fuente de error puede derivar del hecho que no todas las hospitalizaciones de la población del sector ocurren en este establecimiento, o que parte de los ingresos sean por beneficiarios de otras Áreas de Salud. Aun cuando no tenemos información precisa de la magnitud de esta situación, el fenómeno parece ser poco frecuente. En ese mismo año el 96% de los partos atendidos en la Maternidad del Área correspondían a embarazadas con domicilio en el sector, y sólo 9% de las beneficiarias del Área Norte tuvieron su parto en establecimientos de otros distritos de salud.

Todo ello puede determinar una sobreestimación de las tasas de hospitalización calculadas para el desnutrido, pero aun cuando se hiciera una corrección estimativa en base a los elementos ya señalados, las diferencias por estado nutricional continúan siendo altamente significativas. Esto es especialmente válido en el menor de seis meses, que presentó 27 y seis veces más episodios de diarrea y patología respiratoria al comparar el desnutrido leve con el normal.

No sorprendió el hallazgo de una mayor frecuencia de patología asociada e intercurrente y una mayor duración de la hospitalización, lo que refleja mayor gravedad de las infecciones. La desnutrición leve ya significa un incremento del tiempo de permanencia en aproximadamente 20% por encima del normal, cifra que muchas veces aumenta en los grados más avanzados.

La mayor incidencia y gravedad de la enfermedad determinan un considerable alargamiento del tiempo de hospitalización. Este problema, que se percibe claramente para la desnutrición grave, ocurre aún con más trascendencia en los grados leves. Como la mayor prevalencia corresponde a este grupo, el incremento de la incidencia de morbilidad condiciona un 25.4% del exceso de tiempo total de hospitalizaciones, superando incluso el efecto provocado por los grados avanzados.

El costo total por este concepto supera la suma de US\$300.000 anuales para los desnutridos del Área Norte de Santiago. Evidentemente, esa suma permitiría mejorar sustancialmente las acciones

de protección y fomento de la salud, reducir la prevalencia de desnutrición, y minimizar el costo social por este concepto.

CONCLUSIONES

1. La desnutrición del niño menor de dos años condiciona: mayor prevalencia de hospitalizaciones por patología respiratoria y digestiva; mayor frecuencia de patologías asociadas a la causa básica de ingreso; mayor frecuencia de infecciones intrahospitalarias, y mayor duración de la hospitalización.
2. Este efecto es progresivo mientras más grave sea el deterioro del estado nutricional, pero se hace evidente y estadísticamente significativo a partir del déficit leve.
3. La desnutrición condiciona un exceso en el tiempo de hospitalización por patología respiratoria y digestiva, que fue estimado en 10,609 días anuales para el Area Norte de Santiago. En un 32.3%, este efecto está condicionado por la desnutrición leve.
4. El costo social por este concepto supera la suma de US\$ 300,000 anuales, cifra que tendría un mayor impacto social si se empleara en actividades de fomento y protección de la salud.

SUMMARY

PROTEIN-ENERGY MALNUTRITION: SOCIAL COST FOR DIARRHEA AND RESPIRATORY PATHOLOGY

Information from the hospital records of 1,660 children under two years of age admitted to the Hospital Roberto del Río (Northern District of Santiago) during 1979, allowed carrying out an analysis of the effect of malnutrition upon the admission rate and length of stay for diarrhea and respiratory infections.

The following indexes were calculated and related to nutritional status: a) Admission rate for the total population of children under two years of age from the Northern District of Santiago; b) frequency of associated and intercurrent pathology, and c) length of stay.

The three indexes evidenced a clear relationship with nutritional status ($P \ll 0.01$), showing a progressive deterioration as the relationship weight/age became impaired. The admission rate for diarrhea was nine times higher, and

the length of stay 16.9% higher ($P < 0.001$) in children with mild malnutrition as compared with normal patients. For respiratory infections the rates were 2.4 and 24.7% higher ($P < 0.001$) in malnourished patients than in normals.

The excess of admission rate for diarrhea and respiratory pathology, conditioned by malnutrition in the Northern District of Santiago, was estimated as the cost equivalent to 10,609 extra days of stay, with an annual cost above US\$ 300,000. The investment of such an amount of money in health promotion and protection activities would certainly increase its social cost-effectiveness.

BIBLIOGRAFIA

1. Chandra, R.K. & P.M. Newberne. *Nutrition, Immunity and infection*. New York, N.Y., Plenum Press, 1977.
2. Neumann, C.G., G.L. Lawlor, E.R. Stiehm, M.E. Swendseid, C. Newton, J. Herbert, A.J. Ammann & M. Jacob. Immunologic responses in malnourished children. *Am. J. Clin. Nutr.*, 28: 89, 1975.
3. Awdeh, Z.L., A.K. Kanawati & S.Y. Alami. Antibody response in marasmic children during recovery. *Acta Pediat. Scand.*, 66: 689, 1977.
4. Kielmann, A.A. & R.M. Curcio. Complement (C_3), nutrition and infection. *Bull. WHO*, 57: 113, 1979.
5. Murray, D., S.A. Loomis, L.G. Casazza, H. Rey & R. Miranda. Development of impaired cell-mediated immunity in mild and moderate malnutrition. *Am. J. Clin. Nutr.*, 34: 68, 1981.
6. Good, R.A., G. Fernandes, E.J. Yunis, W.C. Cooper, D.C. José, T.R. Kramer & M.A. Hansen. Nutritional deficiency, immunologic function and disease. *Am. J. Pathol.*, 84: 599, 1976.
7. Mata, L.M. & W.P. Faulk. The immune response of malnourished subjects with special reference to measles. *Arch. Latinoamer. Nutr.*, 23: 345, 1973.
8. Puffer, R. & C. Serrano. La deficiencia nutricional y la mortalidad de la niñez. Resultados de la investigación interamericana de mortalidad en la niñez. *Bol. Of. San. Pan.*, 75: 1, 1973.
9. Snedecor, G. & W. Cochran. *Statistical Methods*. 6th ed. Ames, Iowa, The Iowa State University Press, 1972.
10. Atalah, E., E. Gómez, *et al.* Evaluación integrada de los Sistemas de Recuperación de Desnutridos. Informe Final. Departamento de Nutrición, Facultad de Medicina. CONPAN. Stgo., julio de 1981.
11. Romero, M.I., N. Majluf, G. Ubilla, M. Guerrero & G. Palacios. Nivel de salud y atención pediátrica preventiva. Una aplicación de ingeniería de

- sistemas. *Cuadernos Médicos Sociales*, XVII (4): 31-37, 1976.
12. Rebolledo, A. **Trascendencia de la Sala Cuna JUNJI sobre el Crecimiento y Desarrollo del Lactante**. Tesis para optar al grado de *Magister* de planificación en alimentación y nutrición. Universidad de Chile, INTA, 1981.
 13. Oto, M.A., *et al.* Evaluación del estado nutritivo y su relación con ciertas variables de riesgo biológico en niños de bajo peso de nacimiento. *Rev. Chilena Ped.*, 47: 409, 1976.
 14. Rutman, M., Y. Titium, C. Ahumada, Y. Vega & E. Atalah. Reliability of nutritional data in Chile. An error model. En: **XI International Congress of Nutrition, Brazil, 1978** (Abstract 671).
 15. Gómez, E., E. Atalah, B. Salinas & J. Rodríguez. Diseño de una metodología para evaluar el programa de atención del niño con déficit nutricional. *Rev. Chilena Nutr.*, 9: 69, 1981.

NUTRITIONAL STATUS OF THE ELDERLY IN PALMARES, COSTA RICA

*Diane V. Havlir¹, Sandra Murillo², Eduardo Robles³,
Alfonso Trejos⁴ y Leonardo Mata^{2, 5}*

**Instituto de Investigaciones en Salud (INISA), Universidad
de Costa Rica, San José, Costa Rica, and St. Olaf College,
Northfield, Minnesota, USA**

SUMMARY

The nutritional status of aged persons living in a small Costa Rican community was evaluated using anthropometric measurements, clinical findings and dietary surveys. Eighteen per cent of the aged were overweight, a condition that occurred more frequently in women than in men. In a random sample

Manuscrito modificado recibido: 2-4-83.

- 1 St. Olaf College, Associated Colleges of the Midwest Latin American Field Research Program. Presently at Duke University Medical School, Durham, North Carolina, USA.
- 2 Instituto de Investigaciones en Salud (INISA), Universidad de Costa Rica, Ciudad Universitaria Rodrigo Facio, San José, Costa Rica.
- 3 Palmares Health Center, Ministry of Health, Costa Rica.
- 4 Hospital San Juan de Dios, San José, Costa Rica.
- 5 Address reprint requests to: Leonardo Mata, D. Sc., Director, Instituto de Investigaciones en Salud (INISA), Universidad de Costa Rica, Ciudad Universitaria Rodrigo Facio, San José, Costa Rica.

of subjects, serum albumin values were low in 45%, serum cholesterol values high in 39%, and hemoglobin values low in 3%. The subjects consumed a simple, repetitive diet with few processed foods which met 80% of requirements for protein, calcium, and iron, although calorie and vitamin A values appeared low. The lack of severe nutritional problems of the elderly was attributed to the family structure, good hygiene and protection from debilitating infectious disease, good community health services, and simple balanced diets.

INTRODUCTION

Costa Rica, a small developing Central American country with a population of two million persons, no longer has a high death rate due to infectious diseases. Like most industrialized countries, the first and second most common causes of death are circulatory diseases and malignant neoplasms, respectively (1). Social reform, better environmental conditions, and an increase in the standard of living have contributed to the rapid improvement of health and nutritional conditions in recent decades (2), but the emphasis and evaluation of these improvements has been focused on infants and children. Although the country has a rapidly growing aging population because of increases in life expectancy, there has been little research done on the health of the elderly, and even less is known about their nutritional status. The purpose of this study, was therefore, to identify the general health and nutritional patterns of a population of noninstitutionalized elderly in a rural setting in Costa Rica.

The location selected was Palmares, a small community with a population of 3,083 located along the Pan American Highway, 52 kilometers northwest of San José. Palmares is the central community of a larger agricultural district providing commerce, educational, and cultural meeting places for the district. It has three major health centers, a dental clinic, and a community-sponsored home for the aged. The Central Health Center, staffed by four full-time nurses and one physician, offers free services to all members of the community. Nurses visit each family at regular intervals and maintain records on health and living conditions. Adjacent to the Health Center is a Nutrition Center providing assistance to pregnant women, young mothers, and children. A Social Security Health Center is also located in Palmares and offers free services to those entitled to social security benefits. For persons requiring hospital

services, a regional hospital is located in the nearby community of San Ramón, 8 km north of Palmares.

METHODS

The study was conducted during February through April, 1979, and included a census for characterization and collection of anthropometric data of the entire aged population. Because of time and staff limitations, a random sample was selected for clinical studies, and a further subsample for dietary surveys.

Aged Population

The names and addresses of all persons 65 years or older were obtained from the records of the Central Health Center, and a census was made to identify their age, civil status, and socioeconomic situation. Of the 243 elderly persons living in Palmares, 28 lived in the home for the aged and were not included in the study because they represented a select, institutionalized group. Many suffered mental disabilities which would greatly restrict data collection; furthermore, the majority were non-ambulatory, which would preclude an appropriate anthropometric evaluation. Of the 215 aged subjects living in the community, 201 participated in the initial census interview; informed consent was freely given by all participants. Of the 14 persons unable to participate, six (30%) were consistently absent from the house because of working or social obligations, five (25%) were in the hospital, and three (15%) were out of town. The census interviews took place in the home of the subject, and one or more of the family members were often present. The *cedula*, an obligatory identification card issued by the Government, was used to verify information obtained in the interview. All information was recorded on pre-coded data sheets.

The age distribution, marital status, and educational background as well as occupation, employment, and pension status for males and females in the population, are detailed in Table 1. Seventy-seven per cent of the elderly lived with family members, 15% lived with spouse only, and 8% lived alone. All but two of the houses surveyed had running water and electricity, and 76% of the population lived in houses with flush toilets, 23% with latrines, and 1% with no facilities.

TABLE 1
 CHARACTERIZATION OF THE AGED POPULATION
 IN PALMARES, COSTA RICA, 1979

Subjects	Male Number (o/o)	Female Number (o/o)	Total Number (o/o)
<i>Total</i>	92(46)	109(54)	201(100)
<i>Age (years):</i>			
65-69	33(36)	52(47)	85(43)
70-74	23(25)	25(23)	47(23)
75-79	12(13)	15(14)	28(14)
80-84	16(17)	16(15)	32(16)
85-89	7 (8)	0 (0)	7 (3)
≥ 90	1 (1)	1 (1)	2 (1)
<i>Marital status:</i>			
Married	60(65)	39(36)	99(49)
Single	11(12)	17(16)	28(14)
Widowed	20(22)	50(46)	70(35)
Separated	1 (1)	3 (2)	4 (2)
<i>Education:</i>			
0-4 years	58(63)	66(61)	124(62)
5-6 years	26(28)	36(32)	62(31)
≥ 7 years	7 (8)	5 (5)	12 (6)
Unknown	1 (1)	2 (2)	3 (1)
<i>Occupation:</i>			
Agriculture	59(64)	2 (2)	61(30)
Homemaker	0 (0)	95(86)	95(47)
Skilled craft	15(16)	0 (0)	15 (8)
Municipal	4 (5)	0 (0)	4 (2)
Business	3 (3)	3 (3)	6 (3)
Teacher	1 (1)	5 (5)	6 (3)
Other	10(11)	4 (4)	14 (7)
<i>Employment:</i>			
None	61(66)	108(99)	169(84)
Full time	8 (9)	0 (0)	8 (4)
Part time	23(25)	1 (1)	24(12)
<i>Pension:</i>			
None	43(47)	89(81)	132(66)
Government	17(19)	7 (7)	24(12)
Family allowances	29(31)	12(11)	41(20)
Other	2 (2)	0 (0)	2 (1)
Unknown	1 (1)	1 (1)	2 (1)

Anthropometric Measurements

Height and weight measurements were obtained at the time of the census by a trained technician according to standard INISA procedure. Duplicate measurements were taken, and the mean value recorded to the nearest millimeter. Subjects fully clothed except for shoes were weighed using a calibrated, 125 kg limit, 1 kg division *Detecto* scale. Clothing, in general, was light due to the tropical climate. Duplicate weighings were made, and the mean value was recorded to the nearest 1 kg. The percentage of desired weight for height (DWH) was calculated by dividing the actual weight by the ideal weight for a medium body frame (3).

Dietary

One half of the group that participated in the clinical studies was randomly selected for dietary evaluation consisting of two 24-hour recall surveys and an appraisal of food habits and preparation methods. Surveys were carried out in the home of the subject by three skilled interviewers supervised by a nutritionist from INISA. Household measuring devices were used to estimate quantities, and a family member or cook often aided in supplying recipes and portion estimates. The general dietary survey was performed following the first 24-hour recall survey and included questions concerning frequency of intake and manner of preparation of common foods.

Energy, protein, calcium, iron, and retinol values were calculated using food composition tables adopted for Central American countries (4, 5). The per cent adequacy of energy, protein, and other nutrients was calculated using mean values in reference to FAO/WHO recommendations (6, 7).

Clinical Studies

For participation in the clinical studies, a random sample was drawn representing 20% of the population interviewed. Physical examinations specifically designed to detect clinical signs of nutritional problems were done by a local physician of the staff of the Central Health Center. Evaluation included goiter, marasmus, edema, conjunctivitis, Bitot's spots, xerophthalmia, keratomalacia, cataracts, visual acuity, swollen or bleeding gums, angular stomatitis, glossitis, skin abnormalities, hepatomegaly, splenomegaly, bony

deformations, respiratory distress, and neurological disturbances. Vital signs were taken on all patients.

RESULTS

Anthropometric

Heights and weights were obtained from 191 of the 201 subjects interviewed (five persons were uncooperative, three were in wheelchairs, and two were bedridden). The values for per cent of desired weight for height (DWH) are presented in Table 2.

Of the total population, 72% fell in the normal (80-119% DWH) range, 10% were underweight, and 18% were overweight. A difference existed between the distribution in the categories for men and women (Chi Square $P < 0.025$); these results are also given in Table 2. Defining obesity as over 119% DWH, 11% of the males were obese while 24% of the females were obese.

TABLE 2

ANTHROPOMETRIC MEASUREMENTS OF 191 ELDERLY PERSONS,
PALMARES, COSTA RICA, 1979

Subjects	Per cent of desired weight for height (DWH)					
	≤ 69	70-79	80-119	120-139	140-159	≥ 160
<i>Male (years)</i>						
65-69	0*	3	28	3	0	0
70-79	0	5	31	5	0	0
≥ 80	0	1	12	2	1	0
Total males	0	9	71	10	1	0
<i>Female (years)</i>						
65-69	2*	0	29	12	3	2
70-79	3	3	27	5	0	1
≥ 80	1	2	9	1	0	0
Total females	6	5	65	18	3	3

* Figures are persons in various DWH categories.

Weights of 60% of the females in contrast to 10% of the males were greater than 140% DWH. While almost an equal percentage of men and women were under 80% DWH, 60% of the women were less than 70 DWH while no men fell into this category.

Dietary

The mean daily intakes of protein, energy, and nutrients compared to WHO recommendations, are presented in Table 3. Using a two-tailed Wilcoxon rank sign test, there was no evidence at the 0.05 level for a difference in intakes for the two days.

In this subsample, all subjects met 4/5th's of the WHO protein requirements while only 35% met 4/5th's of the energy requirements. Four-fifths of calcium and iron requirements were met by 85% and 80% of the subjects, respectively, while 4/5th's of vitamin A (retinol equivalents) were met by none.

Dietary surveys revealed that the elderly live on simple prepared diets with a repetitive meal schedule, comprised of few processed foods. Breakfast was consumed by all of the subjects and usually consisted of a white bread with butter or cheese and coffee. Lunch was the main meal of the day, and frequently it included an egg or meat and a vegetable soup. Twenty per cent of the persons reported eating meat at least five days per week, while 35% consumed eggs daily. With few exceptions, rice, beans, tortillas, and milk were included in the main meal. Seventy-five per cent of the subjects drank milk on a daily basis. Salad, fresh fruit, or fried plantains were also included in many lunches. Dinner consisted of the same foods as lunch, but in reduced portions.

Clinical Studies

Physical examinations were conducted and blood tests done on 38 patients. Two of the 40 subjects were unwilling to participate for reasons not elicitable; both were alert and ambulatory with no gross physical or nutritional disabilities. The physician found no subjects with protein-calorie malnutrition. Positive findings in the clinical exams included goiter (two cases), cataracts (four), angular stomatitis (nine), papillary atrophy of the tongue (five), glossitis (one), and bilateral edema of lower extremities (five).

Blood levels of serum cholesterol, serum albumin, hemoglobin, and hematocrit are presented in Table 4. The sample size

TABLE 3

ESTIMATED MEAN (\pm SD) DAILY INTAKES AND PER CENT ADEQUACY OF PROTEIN,
ENERGY, AND NUTRIENTS, 20 ELDERLY, PALMARES, COSTA RICA, 1979

Subjects	Energy, kcal	Protein, g	Calcium, mg	Iron, mg	Vitamin A, retinol equivalents, μ g
<i>Male (n = 7)</i>					
Range	706 - 1526	19.7 - 68.4	284 - 1412	6.4 - 14.7	56 - 506
Daily mean intake	1235 \pm 324	45.3 \pm 14.7	824 \pm 424	10.2 \pm 3.6	240 \pm 143
Standard	33.2*	0.57**	450	9	750
<i>Female (n = 13)</i>					
Range	780 - 1364	23.9 - 67.0	112 - 1608	5.3 - 16.4	36 - 398
Daily mean intake	1060 \pm 190	44.6 \pm 12.5	719 \pm 347	10.9 \pm 3.4	190 \pm 93
Standard	29.1*	0.52**	450	9	750
<i>Total (n = 20)</i>					
Per cent meeting 4/5 WHO recommendation	35	100	85	80	0

* Standard is expressed in kcal/kg body weight. This value was reduced by 10% for those persons over 70 years of age.

** Standard is expressed in g/kg body weight.

TABLE 4
 MEAN (\pm SD) LEVELS, RANGE, AND PER CENT
 OF ABNORMAL VALUES IN BLOOD LEVELS,
 38 ELDERLY IN PALMARES, COSTA RICA,
 1979

	Cholesterol, mg/100ml	Serum albumin, g/100ml	Hemoglobin, g/100ml	Hematocrit, %
<i>Males</i>				
Mean	263 \pm 80	3.6 \pm 0.6	14.9 \pm 1.0	43 \pm 3
Number of subjects	18	18	16	16
Range	141 - 444	2.4 - 4.3	12.7 - 16.3	37 - 46
Standard	140 - 290	3.6**	13**	39**
Per cent with abnormal values	28	44	6	6
<i>Females</i>				
Number of subjects	20	20	20	20
Range	151 - 421	2.4 - 4.7	12.2 - 15.7	34 - 45
Mean	275 \pm 71	3.6 \pm 0.6	13.9 \pm 1.0	41 \pm 3
Standard	140 - 290*	3.6**	12**	36**
Per cent with abnormal values	50	45	0	5
<i>Total</i>				
Per cent with abnormal values	39	45	3	5

* Range of acceptable normal values.

** Lowest acceptable value.

precluded a meaningful Chi square evaluation of variables such as age and sex. High cholesterol values were obtained in 28% of the males and 50% of the females. The mean cholesterol values for underweight, normal, and obese persons were in mg/100 ml, 250, 271, and 300, respectively. Serum albumin values were low in 45% of the subjects, with no difference between percentages for

males and females. Low hemoglobin and hematocrit values were found in only 30/o and 50/o of the subjects, respectively.

DISCUSSION

This study focused on a small group of elderly persons living in Palmares, Costa Rica, typical agricultural community with good health care facilities. As the findings revealed, the majority of the elderly enjoy adequate living conditions, and 770/o live within a family setting. The family environment is beneficial by providing psychosocial support, participation in family meals, and security and social interaction which prevent feelings of loneliness and uselessness. Periodic home visits by community nurses further detect and care for health and nutritional problems of the elderly living in isolation.

The condition of being overweight was present in the aged, more frequently in women than in men. This trend probably results from several factors. One may be that elderly women who had a more active occupation in the past no longer have a physically demanding routine and remain sedentary in the house. In contrast, some of the men remained engaged in physical labor well into their seventies, and apparently obtain more walking exercise than the women in maintaining social interactions with other men in the community. Although results were not significant at the level of 0.05, the percentages of overweight persons diminished with age. An increase in tooth decay and periodontal disease, digestive problems, and hospitalization probably contributes to this trend. Kohrs *et al.* (11) and McGandy (12) reported decreased calorie intakes in the late age. On the other hand, it has been suggested that overweight persons tend to die at an earlier age.

Physical examinations suggested that protein-calorie malnutrition is not a problem in this population; however, there is evidence of vitamin or mineral deficiencies, understandable in aged people, even in different societies. Goiter was present in three patients, and this was undoubtedly developed before iodine was included in the salt. The presence of papillary atrophy and glossitis as well as several cases of angular stomatitis suggests a possible riboflavin or nicotinic acid deficiency. It is difficult to discern the significance of edema of lower extremities in relation to nutritional deficiencies due to the extensive differential of this condition.

It is also difficult to determine the nutritional significance

and/or contribution to the rather high number of subjects with low serum albumin values (45^o/o). Low values would be expected in protein malnutrition; nevertheless, this condition of low values has multiple etiologies. Abnormal cholesterol values were also found: 28^o/o of the males and 50^o/o of the women presented high values. These are purely descriptive because of the small sample size and yet, they are noteworthy in view of the increasing importance of cardiovascular diseases in Costa Rica. The contribution of the large amounts of fats used in the preparation of the traditional diet to these elevated levels also warrants consideration. Contrary to results of surveys done on elderly people in the United States (13, 14), low hemoglobin values did not appear to be a problem, with only one person having a low value.

That calorie intakes were found to be low relative to WHO standards is not surprising. In dietary surveys in elderly people in the United States, energy consumption was inadequate in almost all studies (15). The fact could be accounted for by a methodology which has been found to underestimate energy values (16) as well as by current overestimation of energy requirements for the aged. Studies in Costa Rica suggest that the WHO dietary requirements may be artificially elevated as much as 20^o/o, particularly for children (17).

The elderly have maintained a steady diet over the years, not incorporating processed or convenience foods. The simple, repetitive diet contributed the minimum protein requirements in the form of egg, meat, and milk products, while the relatively high consumption of milk and cheese helped fill the calcium requirement. In several studies of the aged in the United States, calcium intake was found to be inadequate (18-20). While the iron requirement was met by 80^o/o of the subjects, vitamin A intake was consistently low. In a national survey undertaken in Costa Rica in 1966 (21), vitamin A values were also reported as being low, but a recent survey showed a virtual absence of vitamin A deficiency.

The present results suggest that the elderly population of Palmares is not suffering from overt nutritional deficiencies. This observation is relevant as there is scarce or no information on community studies of the nutritional status of the elderly in Latin America. Seventy-two per cent of the population had an adequate weight for height, and 18^o/o had excess weight. Mean daily values of protein, calcium, and iron met the WHO requirements; only 10^o/o of elders were underweight, more prominent in women. However, edema or protein-calorie malnutrition was not found in

anyone upon physical examination. The family structure, good health, care facilities, a balanced diet, and an environment relatively free of infections, seemed to be three important factors influencing the health of the elderly. Possible nutritionally related problems of this population brought forth by this study include the incidence of obesity especially in women, high cholesterol levels, low serum albumin levels and low vitamin A, riboflavin, and nicotinic acid intake. These and other nutritional problems deserve attention in the future, as many Latin American countries are in frank transition in lifestyles and quality of life.

RESUMEN

EL ESTADO NUTRICIONAL DE LAS PERSONAS DE EDAD AVANZADA EN PALMARES, COSTA RICA

Se evaluó el estado nutricional de las personas de edad avanzada de una pequeña comunidad costarricense, valiéndose de mediciones antropométricas, hallazgos clínicos, y encuestas dietéticas. Según revelaron los resultados, el 18% de dichas personas tenían sobrepeso, condición que se observó con mayor frecuencia en las mujeres que en los hombres ($P < 0.025$). En una muestra de sujetos seleccionada al azar, los valores séricos de albúmina fueron bajos en un 45%, los de colesterol, altos en un 39%, y los de hemoglobina, bajos en un 3%. Los sujetos consumían una dieta sencilla, repetitiva, que incluía pocos productos procesados y que satisfacía el 80% de los requerimientos establecidos por la Organización Mundial de la Salud (OMS) para proteína, calcio y hierro, aunque aparentemente, los valores para calorías y vitamina A eran bajos. La ausencia de problemas nutricionales graves entre las personas de edad avanzada de Palmares se atribuyó a la estructura familiar, buena higiene y protección contra las enfermedades infecciosas debilitantes, servicios de salud en la comunidad efectivos, y dietas simples y balanceadas.

ACKNOWLEDGEMENTS

Special thanks are given to Virginia Vásquez and the staff of INISA and the Central Health Center, as well as to the elderly of Palmares who willingly participated in the study.

BIBLIOGRAPHY

1. **Health Conditions in the Americas 1973-1976.** Washington, D.C., Pan American Health Organization, 1978, p. 241. (Scientific Publication No. 364).
2. Mata, L. J. & E. Mohs. As seen from national levels: developing world. In: **Progress in Human Nutrition.** Vol. 2. S. Margen and R. A. Ogar (Eds.). Westport, Conn., Ari Pub. Co., 1978, p. 254-264.
3. Keyes, A. Normal nutrition. In: **Modern Nutrition in Health and Disease.** Chapter 1. Wohl and R. S. Goodhart (Eds.). Philadelphia, Lea and Febirger, 1960.
4. Flores, M. M., T. Menchú & M. Y. Lara. **Valor Nutritivo de los Alimentos para Centro América y Panamá.** Guatemala, Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP), mayo de 1971.
5. Wu-Leung, Woot-Tsuen, con la colaboración de Marina Flores. **Tabla de Composición de Alimentos para Uso en América Latina.** Preparada bajo los auspicios del Comité Interdepartamental de Nutrición para la Defensa Nacional, Instituto Nacional para Artritis y Enfermedades Metabólicas, Institutos Nacionales de la Salud, Bethesda, Maryland, EE.UU., y del Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP), ciudad de Guatemala, C. A. Washington, D. C., U.S. Government Printing Office, junio, 1961, 132 p.
6. **Energy and Protein Requirements.** Report of a Joint FAO/WHO ad hoc Expert Committee, Rome, 22 March-2 April, 1971. Rome, Food and Agriculture Organization of the United Nations, 1973, 20 p. (FAO Nutrition Meetings Report Series No. 52; WHO Technical Report Series No. 522).
7. Passmore, R., M. Narayana Rao, B. M. Nical, G. H. Beaton & E. M. DeMaeyer. **Handbook of Nutritional Requirements.** Geneva, World Health Organization, 1974 (WHO Monograph Series No. 61).
8. **Manual de Técnicas de Laboratorio Químico Clínico.** San José, Costa Rica, Universidad de Costa Rica, 1978.
9. **Hematología Técnico-Práctica.** Vol. 1. **Morfología Hematológica.** San José, Costa Rica, Universidad de Costa Rica, 1977.
10. **Nutritional Anaemias.** Report of a WHO Scientific Group. Geneva, World Health Organization, 1968, 39 p. (WHO Technical Report Series No. 405).
11. Kohrs, M. B., P. O'Hanlon & D. Eklund. Title VII. Nutrition program for the elderly. **J. Am. Dietet. Assoc.**, 72: 487, 1978.
12. McGandy, R. B., C. H. Barrows, A. Spanias, A. Meredith, J. L. Stone & A. H. Norris. Nutrient intakes and energy expenditures in men of different ages. **J. Gerontol.**, 21: 581, 1966.

13. Jansen, C. & I. Harril. Intakes and serum levels of protein and iron for 70 elderly women. *Am. J. Clin. Nutr.*, **30**: 1414, 1977.
14. U. S. Department of Health, Education and Welfare. **Ten State Nutrition Survey 1968-1970. IV. Biochemical.** Atlanta, Georgia, Center for Disease Control, 1972 (HEW Publication No. (HSM) 72-8132).
15. O'Hanlon, P. & M. B. Kohrs. Dietary surveys of older Americans. *Am. J. Clin. Nutr.*, **31**: 1257, 1978.
16. Madden, J. P., S. J. Goodman & H. Guthrie. Validity of the 24 hour recall. *J. Am. Dietet. Assoc.*, **59**: 129, 1971.
17. Novotny, R., L. Mata & H. Brenes. Consumo de leche por lactantes del área rural de Puriscal, Costa Rica, 1978. *Rev. Méd. Hosp. Nal. Niños*, **15**(1): 45-58, 1980.
18. Joering, E. Nutrient contribution of a meals program for senior citizens. *J. Am. Dietet. Assoc.*, **59**: 129, 1971.
19. Clarke, M. & L. Wakefield. Food choices of institutionalized vs. independent living elderly persons. *J. Am. Dietet. Assoc.*, **66**: 600, 1975.
20. Duthrie, H. A., K. Black & J. P. Madden. Nutritional practices of elderly citizens in rural Pennsylvania. *Gerontol.*, **12**: 330, 1972.
21. **Evaluación Nutricional de la Población de Centro América y Panamá. Costa Rica.** Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP); Oficina de Investigaciones Internacionales de los Institutos Nacionales de Salud (EE.UU.); Ministerio de Salubridad Pública de Costa Rica. Guatemala, Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá, 1969, 113 p. más Apéndices A-E.

UN ESTUDIO DESCRIPTIVO DE 43 PROGRAMAS DE EDUCACION NUTRICIONAL EN VENEZUELA¹

Paulina L. Debollain², Irene Pérez Schael³ y Leila Sfeir⁴

Universidad Simón Bolívar e Instituto Nacional de Dermatología, Caracas, Venezuela

RESUMEN

Este estudio tuvo por objetivo determinar los recursos existentes y características específicas de programas en educación nutricional en Venezuela. De un total de 174 instituciones contactadas, se encontró que 43 están involucrados en estas actividades: 22 instituciones oficiales, y 21 privadas. La gran mayoría de los programas correspondían a los sectores oficiales de salud y a empresas comerciales y de industria privada. Mientras que el principal propósito del primer sector era motivar y educar a la audiencia, el del segundo

Manuscrito modificado recibido: 19-1-83.

- 1 Comunicación preliminar presentada en el XIII Congreso Internacional de Nutrición celebrado en San Diego, California, en agosto de 1981.
- 2 Departamento de Tecnología de Procesos Biológicos y Bioquímicos, Universidad Simón Bolívar, Apartado 80659, Caracas 1080, Venezuela.
- 3 Instituto Nacional de Dermatología, Sección de Investigación sobre Desnutrición y Diarrea Infantil, Caracas, Venezuela.
- 4 Estudiante de postgrado en Ciencias de Alimentos y Nutrición, Departamento de Tecnología de Procesos Biológicos y Bioquímicos, Universidad Simón Bolívar.

era básicamente comercial. El 43^o/o del contenido de los programas hacía énfasis en conceptos básicos de la nutrición; solamente un 19^o/o de programas incluían información sobre la lactancia materna y nutrición infantil. El uso del método de comunicación interpersonal es significativamente mayor (65^o/o) al compararlo con los de medios masivos de comunicación (35^o/o), tanto en el caso de instituciones oficiales como de entidades privadas. Los nutricionistas-dietistas y médicos, son los responsables de la mayoría de los programas, cuya audiencia principal son madres de familia y niños escolares. Mientras que el sector salud-oficial dirige sus actividades hacia la clase obrera y marginal, el sector industria-privado lo hace a la clase media y alta. El 46^o/o y el 55^o/o de programas oficiales y privados, respectivamente, no incluyen un componente de evaluación. Se concluyó que los programas de educación nutricional en Venezuela siguen las pautas tradicionales en cuanto a objetivos, contenido, medio y tipo de audiencia se refiere. Esto podría haber contribuido a su aparente falta de impacto sobre la población objetivo de los programas. Se sugiere, por lo tanto, una re-estructuración de los existentes, basada primordialmente en objetivos bien delineados y mensurables; contenidos que ayudan a resolver problemas nutricionales específicos de la población, y el uso integral de los métodos de comunicación social. Ello requiere una amplia participación de la población base, no solamente en su implementación, sino también en la concepción y planificación del programa.

INTRODUCCION

Uno de los objetivos de la Política Nacional de Alimentación y Nutrición debería ser el de reducir las barreras culturales que dificultan el uso óptimo de los recursos y oportunidades alimentarias del país. Para lograr dicho propósito, es necesario disponer de un amplio plan de educación alimentaria y nutricional, y de ejecutarlo utilizando todos los cauces educativos disponibles, ya sean formales o informales. Para ello, es imprescindible conocer la situación que existe en el país en un momento dado, para así poder identificar lo que se está haciendo y lo que falta por hacer, con miras a estructurar un programa realista, y adecuado a las necesidades de la población, utilizando racionalmente los recursos disponibles.

Este trabajo es el primer intento en Venezuela, de precisar, describir y comparar los recursos institucionales, técnicos, programáticos y de material docente que en los momentos actuales se dedican a labores relacionadas en forma directa o indirecta con la educación nutricional.

Incluye una recopilación de datos que permite identificar las tendencias actuales de la *educación nutricional no-formal*, impartida por instituciones gubernamentales y privadas, en sectores estrechamente vinculados con esta problemática.

No se pretende evaluar el impacto de las actividades, sino más bien describir su estado actual tratando de contribuir así a sentar las bases para un diagnóstico de la situación.

A partir de lo expuesto hasta aquí, se puede definir como objetivo de nuestro estudio lo siguiente: Conocer los programas desarrollados por instituciones oficiales y privadas, y efectuar su comparación, teniendo en cuenta los siguientes aspectos:

- a) Objetivos, medios usados y tipo de personal que los ejecuta.
- b) Cobertura y características de la población a quien van dirigidos.
- c) Impacto de las actividades e identificación de las limitaciones existentes.

Se eligieron estas características específicas de los programas por considerar que son ellos, los indicadores que miden de manera más sensible la situación actual de la educación nutricional no-formal en el país, en relación con una posible estrategia nacional de educación nutricional.

MATERIAL Y METODOS

Se escogió inicialmente una muestra intencionada de 174 instituciones, con su sede principal en el área metropolitana de Caracas y que, por sus funciones o por la influencia que ejercen sobre la comunidad a través de sus campañas publicitarias, podrían estar vinculadas a acciones de educación nutricional no-formal. De estas instituciones, 43 manifestaron llevar a cabo actividades en este campo.

Los datos que aquí se analizan corresponden a las respuestas obtenidas de los directores encargados de los programas. Fueron recopiladas por los autores de este estudio mediante entrevistas personales y valiéndose de un cuestionario semi-estructurado.

Las 43 instituciones, clasificadas inicialmente en oficiales y privadas, se agruparon en los siguientes sectores socioeconómicos: agropecuario, comercio e industria, educación e investigación, y salud.

En el sector agropecuario se ubicaron las instituciones cuya finalidad es impulsar la producción agrícola y su distribución.

En el sector comercio e industria se incluyeron aquellas entidades cuyos principales fines son la producción industrial de alimentos y su comercialización, y que influyen en la comunidad a través de campañas publicitarias.

En el sector educación e investigación se consideran:

- a) Entidades dedicadas a la educación formal. Llegan a la comunidad por medio de las prácticas que realizan los estudiantes al cursar materias de educación nutricional.
- b) Entidades que llevan a cabo programas de asistencia social, los cuales incluyen actividades de educación nutricional.
- c) Entidades que llegan a comunidades específicas, mediante la divulgación de los resultados de las investigaciones que realizan en el campo de la nutrición.

Finalmente, en el sector salud quedan incluidas las instituciones con actividades de asistencia y prevención, cubriendo áreas de educación nutricional dirigidas a grupos específicos de la comunidad.

RESULTADOS

Instituciones y Programas

De las 43 instituciones sometidas a análisis, 22 son de carácter oficial y 21 de carácter privado.

El 37.2% de las mismas están ubicadas en el sector comercio e industria; el 30.3% en el sector educación e investigación, y el 27.9% en el sector salud. Solamente un 4.6% se encuentra en el sector agropecuario.

Si se consideran los programas según el tipo de institución, vemos que el 63.2% de éstos se desarrollan en el sector oficial, y el 36.8% en el privado. Este aumento relativo se debe a que varias de las instituciones desarrollan más de un programa en educación nutricional. Así, el Instituto Nacional de Nutrición al momento del estudio contaba con seis programas para el período marzo 1977-1978, seguido del Hospital de Niños, con un total de cuatro.

Al analizar por sector los programas de las diversas instituciones, se aprecia que el 40.4% corresponden al sector salud, 28%

al sector comercio e industria, y 24.6% al de educación e investigación, mientras que sólo 7% están ubicados en el sector agropecuario.

En general se puede decir que los programas están concentrados en instituciones *oficiales* del sector salud y en *privados* del sector comercio e industria. En efecto, el 53.3% de los programas oficiales corresponden al sector salud, mientras que los del sector comercio e industria representan el 71.4% de todos los programas que se adelantan en instituciones privadas (Tabla 1).

TABLA 1

PROGRAMAS EN EDUCACION NUTRICIONAL POR TIPO
DE INSTITUCIONES Y POR SECTORES

Sector	Programa en Instituciones de tipo				Total de programas	
	Oficial		Privado		No.	%
	No.	%	No.	%		
Agropecuario	4	11.1	—	—	4	7.0
Comercio e industria	1	2.8	15	71.4	16	28.0
Educación e investigación	10	27.8	4	19.0	14	24.6
Salud	21	53.3	2	9.6	23	40.4
Total	36	100.0	21	100.0	57	100.0

Características Específicas de los Programas

Para el análisis de los datos referentes a dichas características se tuvo en cuenta el número de programas y no el número de instituciones.

Objetivos

El objetivo principal de estas actividades era el de “educar y motivar a la población con miras a mejorar el estado nutricional de la comunidad”. Cuando se consideran los otros objetivos, se

observa que, en verdad, solamente las instituciones oficiales persiguen objetivos relacionados con recuperación nutricional, especialmente en los programas del sector salud. Por otra parte, es notorio que de los programas que mencionan el "mercadeo de sus productos" como uno de los objetivos, sólo el 7% se encuentra en el sector oficial y el 93% se encuentra en el sector privado. Esto se debe primordialmente a que los programas de carácter privado en el sector comercio e industria, tienen precisamente como objetivo principal el mercadeo de sus productos (Tabla 2).

TABLA 2

OBJETIVOS DE LOS PROGRAMAS DE EDUCACION NUTRICIONAL
POR TIPO DE INSTITUCION Y POR SECTORES

Objetivos	Programas en instituciones de tipo				Total de programas	
	Oficial		Privado		No.	%
	No.	%	No.	%		
Motivar y educar	34	64	19	36	53	100
Recuperación nutricional	10	100	—	—	10	100
Mercadeo	1	7	13	93	14	100
Total	45	58	32	42	77	100

Mensajes

En estos programas se observó una alta frecuencia de mensajes que suministran información sobre conceptos básicos de la nutrición, es decir, los "grupos de alimentos", sus "fuentes y funciones" y el "valor nutritivo" de los mismos (Tabla 3).

Dado que la mayoría de los programas se encuentran en el sector de entidades oficiales y el sector comercio e industria de instituciones privadas, se hizo un análisis comparativo de los mensajes emitidos en los programas desarrollados por estos sectores. En la Tabla 4 se aprecia así que el 33.3% de los mensajes de programas del sector salud oficial, eran sobre conceptos básicos de la nutrición:

TABLA 3

**MENSAJES DE PROGRAMAS DE EDUCACION NUTRICIONAL
POR TIPO DE INSTITUCION**

Mensaje	Tipo de institucion		Total	
	Oficial	Privado	No.	o/o
	No.	No.		
Fuente, funciones y valor nutritivo de los alimentos	54	34	88	43.4
Promoción de la lactancia materna y alimentación infantil	29	9	38	18.7
Recuperación nutricional y prevención de enfermedades	32	10	42	20.7
Higiene y manipulación de alimentos	28	7	35	17.2
			n = 203	100.0

el 22.60/o cubría la promoción de la lactancia materna y la alimentación infantil; el 25.80/o la recuperación nutricional y prevención de enfermedades, y el 18.30/o hacía hincapié en la higiene y manipulación de alimentos. En cambio, el sector comercio e industria, de carácter privado, daba mayor énfasis a las fuentes, funciones y valor nutritivo de los alimentos, especialmente a los productos alimenticios elaborados por ellos con fines comerciales.

El 58.10/o de los mensajes se dedica a estos efectos, disminuyendo significativamente la proporción de mensajes relativos a la importancia de la lactancia materna y alimentación infantil (16.30/o), higiene y manipulación de alimentos (140/o) y recuperación nutricional y prevención de enfermedades (11.60/o). Puede, pues, decirse que los programas "oficiales" tienen una distribución más equilibrada de sus mensajes, mientras que los correspondientes a las instituciones "privadas" se concentran fuertemente en el área al parecer de sus mayores intereses.

TABLA 4

**MENSAJES EMITIDOS EN PROGRAMAS DE EDUCACION
NUTRICIONAL DEL SECTOR SALUD OFICIAL, Y EL SECTOR
COMERCIO E INDUSTRIA PRIVADO**

Mensajes	Salud, oficial		Comercio e industria, privado	
	No.	o/o	No.	o/o
Fuente, funciones y valor nutritivo de los alimentos	31	33.3	25	58.1
Promoción de lactancia materna y alimentación infantil	21	22.6	7	16.3
Recuperación nutricional y prevención de enfermedades	24	25.8	5	11.6
Higiene y manipulación de alimentos	17	18.3	6	14.0
Total	93	100.0	43	100.0

Medios de Difusión

En cuanto al uso de los medios de comunicación, predominan los tradicionales de educación interpersonal. En las entidades oficiales, 73.2% de programas utilizan este medio y 26.8% los medios masivos de difusión, mientras que en las entidades privadas hay un leve incremento en el uso de medios masivos, siendo éste de 39.3% vs 60.7% para los interpersonales.

Con respecto a los diferentes "sectores", la Tabla 5 muestra que en los de "salud" y "educación e investigación" un porcentaje mayor que el promedio utiliza los medios interpersonales. En cambio, en el sector "comercio e industria", alrededor de la mitad de los programas se valen de medios masivos de comunicación tanto en instituciones oficiales —con muy baja actividad— como privadas.

A pesar del mayor uso de los medios masivos de comunicación en los programas de instituciones privadas, el mismo está casi totalmente concentrado en las actividades del sector comercio e

TABLA 5

UTILIZACION DE MEDIOS MASIVOS vs INTERPERSONAL EN PROGRAMAS DE EDUCACION NUTRICIONAL
POR TIPO DE INSTITUCION Y POR SECTOR

Medios	Oficial										Privado									
	Agrop.		Comerc. e indust.		Educ. e invest.		Salud		Total		Agrop.		Comerc. e indust.		Educ. e invest.		Salud		Total	
	No.	o/o	No.	o/o	No.	o/o	No.	o/o	No.	o/o	No.	o/o	No.	o/o	No.	o/o	No.	o/o	No.	o/o
Masivo	3	50.0	1	50.0	2	18.2	5	22.7	11	26.8	—	—	10	47.6	1	20.0	—	—	11	39.3
Interpersonal	3	50.0	1	50.0	9	81.8	17	77.3	30	73.2	—	—	11	52.4	4	80.0	2	100.0	17	60.7
Total	6	100.0	2	100.0	11	100.0	22	100.0	41	100.0	—	—	21	100.0	5	100.0	2	100.0	28	100.0

industria. Con respecto al tipo de medio, encontramos que la radio y la prensa son requeridas en idéntica forma (25^o/o cada uno). La televisión ocupa el primer lugar (35^o/o) y al cine le corresponde la última posición (15^o/o). Por otra parte, en las entidades oficiales los medios masivos son utilizados por todos los sectores, encontrándose que la radio y la prensa son los más usados (44.4^o/o y 33.4^o/o, respectivamente).

Al especificar los diferentes métodos que se utilizan por el medio interpersonal, se observa que predominan las charlas a grupos de madres, seguidas por entrevistas personales y, finalmente el desarrollo de seminarios, básicamente para el adiestramiento de multiplicadores. Esta tendencia se encontró en casi todos los sectores de entidades privadas y oficiales.

Materiales de Apoyo

Gran parte del material educativo que se emplea en estos programas es elaborado por las mismas instituciones. A la pregunta de si reciben asesoría técnica para la elaboración de dicho material, se constató que mientras en el sector oficial el 40^o/o de los programas reciben asesoría técnica, en el sector privado la cifra asciende al 60^o/o. Analizando las instituciones por sectores, se deduce que dicha diferencia se debe fundamentalmente a la poca asesoría que parece recibir el sector salud. Sin embargo, al tratar de determinar la fuente de asesoría técnica en programas que afirman utilizarlos, según lo demuestra la Tabla 6, el Instituto Nacional de Nutrición —con unos cuantos programas pertenecientes a este sector— es el principal asesor técnico. Cabe destacar el porcentaje significativo (25^o/o) de programas en el sector privado que son asesorados por agencias publicitarias.

Tipo de Personal que Realiza Actividades dentro de los Programas

Según lo revela la Tabla 7, gran parte de las actividades en educación nutricional está a cargo de profesionales de la nutrición. Si se compara el sector salud oficial con el sector comercio e industria privado, se observan diferencias notables. Mientras que en el primero, el 91.7^o/o de programas está a cargo de nutricionistas-dietistas y médicos, en el segundo caso esta acción decae a 55.6^o/o, en tanto que el 44.4^o/o está en manos de agencias publicitarias.

TABLA 6

**ENTIDAD O PROFESIONAL QUE SUMINISTRA ASESORIA
TECNICA PARA LOS PROGRAMAS POR TIPO DE INSTITUCION**

Entidad o profesional	Programas oficiales		Programas privados	
	No.	o/o	No.	o/o
I.N.N.	9	60.0	5	41.7
Nutricionistas-dietistas o médicos	2	13.3	2	16.7
Agencia de publicidad	1	6.7	3	25.0
Escuela de nutrición y dietética UCV	3	20.0	2	16.7
Total	15	100.0	12	100.0

Cobertura

La mayoría de los programas tanto de entidades oficiales como privadas, tienen como área de influencia todo el territorio nacional. Esto confirma la hipótesis de que la mayor parte de las instituciones que desarrollan programas educacionales en el campo de la nutrición, están concentradas en el área metropolitana de Caracas, sede de las instituciones analizadas en este inventario.

Características Específicas de las Audiencias

Se juzgó deseable conocer algunas características del receptor de los programas, específicamente los objetivos referentes al tipo de audiencia, nivel socioeconómico y nivel educativo. Se encontró que los programas van dirigidos primordialmente a las madres o amas de casa (35^o/o), seguido por el público en general (27^o/o).

Los programas de instituciones oficiales se orientan en un 16.5^o/o a la clase obrera y marginal, mientras que los de entidades privadas están dirigidos a la clase media (37.8^o/o) y alta (37.5^o/o). Tan sólo el 26.7^o/o de los programas se dirige a la clase obrera y marginal. Al comparar los sectores comercio e industria y educación e investigación de estas mismas instituciones, se encuentra una diferencia significativa en la audiencia objetivo. Mientras que

TABLA 7
PERSONAL QUE REALIZA ACTIVIDADES DE EDUCACION NUTRICIONAL POR TIPO DE
INSTITUCION Y POR SECTORES

Tipo de personal	Oficial				Privado			
	Sector salud		Todos los sectores		Sector comer. e indus.		Todos los sectores	
	No.	o/o	No.	o/o	No.	o/o	No.	o/o
Nutricionista- dietista o médico	22	91.7	29	72.5	10	55.6	16	59.3
Maestros o multiplicadores	2	8.3	7	17.5	—	—	3	11.1
Estudiantes	—	—	3	7.5	—	—	—	—
Agencia de publicidad	—	—	1	2.5	8	44.4	8	29.6
Total	24	100.0	40	100.0	18	100.0	27	100.0

el sector comercio e industria apunta más hacia las poblaciones de nivel socioeconómico medio y alto, el sector educación e investigación se orienta más hacia las clases sociales media y obrero y marginal (Tabla 8).

El análisis de la Tabla 9 deja ver que los datos sobre educación confirman las tendencias del "nivel socioeconómico". En cambio, en el caso de entidades de tipo oficial, la mayor parte de la población objeto de las actividades en educación nutricional, apenas cubre la enseñanza primaria. En efecto, el 31^o/o llega hasta el 2^o de primaria, y al sumar los que terminan este nivel, prácticamente se alcanza el 60^o/o de la población. Un 23.8^o/o está a nivel de secundaria o técnica y sólo un 16.6^o/o cubre el nivel superior. Las entidades privadas presentan la situación inversa. Mientras que el 60.4^o/o de la audiencia se destina al nivel superior más secundaria y técnica, solamente un 24.1^o/o cubre la primaria completa, y el 15.5^o/o corresponde a quienes no la han terminado.

Evaluación y Restricciones de los Programas

El análisis de los programas demuestra que un bajo porcentaje de los mismos contempla cierto tipo de "evaluación". El 56^o/o de las entidades de tipo oficial dice evaluar sus actividades, cifra que es aún más baja para las entidades privadas (45^o/o). Por otra parte, al considerar las respuestas de la mayoría de los entrevistados, no pareció que tuvieran una clara concepción y aún menos uniformidad en cuanto a lo que entendían por evaluación de programas. El análisis de las respuestas obtenidas permitió categorizar las técnicas de evaluación utilizadas en: aplicación de cuestionarios, entrevistas o sondeo, y medición de cambios en el comportamiento. Fue notorio el hecho que solamente uno de los programas desarrollado por entidades oficiales y otro por entidades privadas mencionasen "rendir informes de actividades" como técnica de evaluación. Ello hace suponer que la mayoría de estos programas o bien no recopilan datos básicos de sus actividades, o no lo consideran como una evaluación.

Según se desprende de los datos en la Tabla 10, las técnicas de evaluación más utilizadas tanto por entidades oficiales como privadas son las que miden retención de mensajes o información a través de los programas. Cabe destacar que sólo un 10.8^o/o de programas oficiales —que corresponde a dos programas del sector agropecuario y dos programas del sector salud— afirman evaluar las actividades observando cambios en el comportamiento de la

TABLA 8

NIVEL SOCIOECONOMICO DE LA AUDIENCIA DE PROGRAMAS DE EDUCACION NUTRICIONAL
POR TIPO DE INSTITUCION Y POR SECTOR

Audiencia, clase social	Programas oficiales, por sector						Programas privados, por sector					
	Agrop.	Comer. e indust.	Educ. e invest.	Salud	Total		Agrop.	Comer e. indust.	Educ. e invest.	Salud	Total	
	o/o	o/o	o/o	o/o	No.	o/o	o/o	o/o	o/o	o/o	No.	o/o
Obrero y marginal	66.6	33.3	43.8	45.5	27	46.5	—	27.8	40.0	—	12	26.7
Medio	16.7	33.3	18.8	12.4	19	32.8	—	36.1	40.0	50.0	17	37.8
Alto	16.7	33.3	37.4	12.1	12	20.7	—	36.1	20.0	50.0	16	35.5
Total	100.0	99.9	100.0	100.0	58	100.0	—	100.0	100.0	100.0	45	100.0

TABLA 9

NIVEL EDUCATIVO DE LA AUDIENCIA DE PROGRAMAS DE EDUCACION NUTRICIONAL
POR TIPO DE INSTITUCION Y POR SECTOR

Audiencia, nivel educativo	Instituciones oficiales, por sector						Instituciones privadas, por sector					
	Agrop.	Comer. e indust.	Educ. e invest.	Salud	Total		Agrop.	Comer e. indust.	Educ. e invest.	Salud	Total	
	o/o	o/o	o/o	o/o	No.	o/o	o/o	o/o	o/o	o/o	No.	o/o
Hasta dos años de primaria	44.5	30.0	26.7	30.0	36	31.0	—	17.1	14.2	—	9	15.5
Primaria completa	33.3	30.0	26.7	28.0	24	28.6	—	25.5	28.6	—	14	24.1
Secundaria y técnica	11.1	20.0	26.6	26.6	20	23.8	—	34.0	28.6	50.0	20	34.5
Universi- taria	11.1	20.0	20.0	16.0	14	16.6	—	23.4	28.6	50.0	15	25.9
Total	100.0 (n=9)	100.0 (n=10)	100.0 (n=15)	100.0 (n=50)	34	100.0	—	100.0 (n=47)	100.0 (n=7)	100.0 (n=4)	58	100.0

TABLA 10
EVALUACION QUE HACEN LOS PROGRAMAS DE EDUCACION NUTRICIONAL POR
TIPO DE INSTITUCION Y POR SECTOR

Técnicas de evaluación	Instituciones y sectores										
	Oficial					Privado					
	Agrop. o/o	Comer. e indust. o/o	Educ. e invest. o/o	Salud o/o	Total No. o/o	Agrop. o/o	Comer. e indust. o/o	Educ. e invest. o/o	Salud o/o	Total No. o/o	
Aplicación de cuestionario	20.0	—	—	33.3	8 21.6	—	14.3	50.0	—	3 16.7	
Entrevistas o sondeo	—	100.0	25.0	23.8	8 21.6	—	21.4	—	—	3 16.7	
Cambios de com- portamiento	40.0	—	—	9.6	4 10.8	—	14.3	—	—	2 11.0	
No evalúan	40.0	—	75.0	33.3	17 46.0	—	50.0	50.0	100.0	10 55.6	
Total	100.0 (n=6)	100.0 (n=1)	100.0 (n=10)	100.0 (n=20)	37 100.0	— (n=0)	100.0 (n=15)	100.0 (n=1)	100.0 (n=2)	18 100.0	

población objetivo. En el caso de las instituciones privadas, dos programas del sector comercio e industria miden cambios en el comportamiento de la audiencia, lo que corresponde al 11^o/o de los programas. Ningún otro sector dentro de este tipo de instituciones afirmó utilizar esta técnica de evaluación.

Las principales restricciones en cuanto al desarrollo y la eficacia de las actividades de educación nutricional aquí descritas son, en orden de importancia: administrativas, económicas y técnicas. Es de notar que tales limitaciones se presentan con mucha mayor frecuencia en las actividades de carácter oficial que en las de carácter privado. En las primeras, más de las dos terceras partes enfrentan dificultades económicas o administrativas, y tan sólo una quinta parte manifiesta no tener restricciones. Por el contrario, en las instituciones privadas, las dos terceras partes de los programas dicen no contar con impedimento alguno para el desarrollo de sus actividades.

DISCUSION Y RECOMENDACIONES

El análisis de los objetivos y mensajes que incluye la mayoría de los programas de educación nutricional investigados en este estudio, demuestra un énfasis excesivo en la parte "teórica" contenida en los programas, entendiéndose por tal, la presencia de una tradicional filosofía de educación nutricional consistente en "transmitir conocimientos al consumidor acerca de sus necesidades nutricionales y del valor nutritivo de los alimentos" (1). Las experiencias en este campo han demostrado que los programas basados en "la transmisión de conocimientos e información", no han logrado su objetivo de "modificar los hábitos alimentarios de la población" (2). En efecto, los tipos de objetivos y mensajes detectados en el presente estudio, estarían demostrando falta de planificación en los programas en el rubro de nuestro interés. Estos programas deberían basarse en un análisis de los principales problemas alimentario-nutricionales que enfrenta la población, y en el estudio de las causas básicas e inmediatas que los ocasionan. A partir de esas bases se pueden definir objetivos adecuados para la resolución de los problemas, cuyo logro dependerá en gran parte del contenido mismo de los programas. Creemos que, en lugar de enfatizar conocimientos de tipo formal, los mensajes deberían concentrarse en temas relacionados con los problemas nutricionales específicos más comunes en la población venezolana: deficiencias proteínico-

calóricas y su relación con las infecciones gastrointestinales, anemias nutricionales, bocio y caries dental. Un enfoque más "holístico", basado en el conocimiento de los patrones socioculturales que inciden en la alimentación y en las prácticas de higiene de los grupos nutricionalmente más vulnerables, puede ser mucho más efectivo en la resolución de estos problemas. El sector comercio-industria, tiende a confundir la propaganda de sus productos con actividades en educación alimentaria y nutricional. Tradicionalmente, los cambios en los patrones de consumo de la población son promovidos por dos sectores socialmente importantes en este aspecto: las instituciones gubernamentales (Ministerio de Agricultura y Salud, y sus respectivos organismos), y las *empresas comerciales*, privadas y gubernamentales, cuyo propósito es más económico que nutricional. A pesar de las grandes ventajas que tiene la oferta de alimentos industrializados a la población, se ha documentado una serie de efectos negativos ocasionados por el mal manejo de ciertos productos, sobre todo en el campo de la alimentación infantil (3).

Por ello es necesario tomar medidas políticas de orientación y control de las actividades promocionales en la industria alimentaria. Este sector, por su larga experiencia en el campo promocional, puede ser de gran importancia para el desarrollo de un programa nacional efectivo de educación nutricional.

En Venezuela, la mayoría de las actividades relacionadas con estos programas utilizan el método interpersonal de comunicación, cara a cara. Este método ha sido criticado por su limitada cobertura e impacto, por su alto costo, y por el requerimiento de un gran número de educadores para poder cubrir la población destinataria (4). Si se considera que en la mayoría de los casos, las actividades en este campo están a cargo de profesionales de la nutrición o de profesionales médicos, la cobertura que pueden tener dichos programas es mínima y su costo/efectividad más bien bajo. Desde el punto de vista comunicacional, las investigaciones parecen indicar que es más beneficioso emplear a la población local en actividades de promoción o educación a nivel comunitario, ya que así se facilita la comunicación y la confianza entre personas de cultura similar. Por otra parte, estos programas se desarrollan básicamente a través de charlas o seminarios a madres, jóvenes, o grupos organizados de una comunidad. En estos casos, el comunicador se percibe como alguien que debe predicar o influenciar a un grupo, para que éste acepte una idea o una acción definida (5).

La importancia de la "participación de la comunidad" en las

decisiones y acciones destinadas a satisfacer sus necesidades básicas, ha sido particularmente reconocida en la última década (6-8). Fugselang (8) considera que la tarea principal del comunicador es integrarse al sistema de comunicación interna mediante el conocimiento de las costumbres y creencias locales, y una sensibilización a las necesidades y sentimientos de su audiencia.

Por todo lo expuesto, se sugiere que en el desarrollo de las actividades de educación nutricional interpersonal, las nutricionistas-dietistas son muy útiles para adiestrar multiplicadores locales. Previo a dicha actividad, se debe establecer una serie de diálogos con líderes de la comunidad para contar con su colaboración, tanto en la identificación de sus problemas alimentario-nutricionales, como en las posibles medidas educativas factibles de implementar para resolverlos. En esta forma, no sólo se adopta el programa a nivel local, sino que también se aprovecha mejor desde el punto de vista costo/efectividad.

En lo que a los medios masivos de comunicación social se refiere, éstos son usados en mayor grado por entidades privadas, básicamente con fines de propaganda comercial, buscando modificar el comportamiento de la población para que prefiera sus productos sobre otros de la competencia. Las pocas entidades oficiales que utilizan los medios de comunicación masiva en sus programas, trabajan aisladamente, con deficiente coordinación; ello trae consigo en algunos casos, una duplicación de los esfuerzos y una subutilización de los recursos humanos y materiales. Debido a dicha situación, la población que se beneficia de estos esfuerzos es mínima.

Richard Manhoff (9) fue el primero en sugerir que así como se venden otros productos por estímulo de la propaganda, las mismas técnicas se pueden utilizar para vender "nutrientes" y "conceptos nutricionales". Sin embargo, el método de los medios masivos por sí solo no parece ser lo más idóneo como para indicar cambios profundos en actitudes o pautas de alimentación. Además, tiene la desventaja de no poder ajustar los mensajes a las situaciones alimentarias a nivel local. Así, pues, se concluye que una buena coordinación de las diferentes técnicas al alcance tales como medios masivos, intermedios e interpersonales, y con una amplia participación de la comunidad, será el método más eficaz para un programa de educación alimentario-nutricional.

Como ya se señaló, en la mayoría de los casos, las actividades en este campo están a cargo de profesionales de la nutrición o de médicos quienes, a pesar de ser expertos en temas de nutrición,

no están entrenados en técnicas educativas ni en métodos y medios de comunicación social. En este sentido, las entidades comerciales están en ventaja ya que cuentan con todo un equipo de publicidad, capaz de manejar en forma eficaz el uso de estas técnicas, métodos y medios con miras a lograr un beneficio para la industria. No obstante, el afán de vender lleva a veces a la industria privada a distorsionar el mensaje, atribuyendo poder nutricional a ciertos productos aun cuando no lo tengan.

Por ello se sugiere que dentro de un programa nacional de educación alimentaria y nutricional, se cuente con un grupo técnico multidisciplinario integrado al menos por un comunicador social, un nutricionista, un especialista en tecnología educativa y un sociólogo/antropólogo. Este grupo técnico, dentro de sus funciones, se encargará de orientar los objetivos y contenido del programa hacia la solución de los problemas nutricionales básicos de la población, y de diseñar los materiales educativos del caso, teniendo en cuenta los aspectos básicos de comunicación, educación, nutrición y las diferencias regionales y culturales.

Por último, al igual que en otros países, los programas de educación nutricional realizados hasta ahora en Venezuela, han prestado poca atención al componente evaluación. Es probable que ello se deba básicamente a la ausencia de una definición clara de objetivos mensurables, que sean consecuencia de una percepción definida de la situación existente al momento de iniciarse un programa o actividad en este campo. Por otra parte, al considerar las respuestas dadas por la mayoría de los entrevistados, parece ser que no hubiese una clara concepción ni uniformidad en cuanto a lo que entendían por evaluación de programas, y mucho menos una clara diferencia entre la evaluación del proceso y del impacto de la intervención. Aunque el estado actual del componente "evaluación" en los programas de salud y nutrición es bastante oscuro, para poder competir con otros tipos de intervenciones dentro del contexto del desarrollo socioeconómico, dichos programas deben ser evaluados. En la práctica, llevar a cabo su evaluación es quizás una de las tareas más complejas a resolver por los profesionales en este campo.

SUMMARY

A DESCRIPTIVE STUDY OF 43 NUTRITION EDUCATION PROGRAMS IN VENEZUELA

This study aimed to determine the existing resources and specific characteristics of non-formal nutrition education programs in Venezuela. Of the 174 institutions initially contacted, 43 were involved in these activities—22 official and 21 private institutions. The bulk of the programs fell under the official health sector and the private food industry. While objectives of the former were to motivate and educate the audience, the latter's goal was basically commercial. Forty-three per cent of the program content dealt with basic nutrition concepts; only 19% of programs included information on breast feeding, and maternal and child nutrition. There is a significantly greater use of interpersonal communication (65%) as compared to mass media (35%), irrespective of the type of institution. In the majority of programs, the nutritionist-dietitians and medical doctors carry out their activities, primarily oriented towards homemakers and school-age children. The official health sector gears its programs toward the poor, while the main interest of private industry are the middle and upper class communities. A total of 46% of the official programs and 55% of the private institutions do not include an evaluation component.

It is concluded that the nutrition education programs in the country appear to follow traditional concepts as far as objectives, program content, media and target groups are concerned. This could have contributed to the apparent lack of impact of non-formal nutrition education in the country; thus the re-planning of existing programs, is suggested. This should be based on well-defined and measurable objectives: include messages geared toward the practical solution of specific nutrition problems, and the use of combined techniques of social communication with as much participation of the community as possible, not only in program implementation but also in its conception and planning.

BIBLIOGRAFIA

1. Bosley, B. Educación en nutrición. En: *Nutrición y Medicina Preventiva*. G. H. Beaton y J. M. Bengoa (Eds.). Ginebra, Organización Mundial de la Salud, 1977, p. 82.
2. Bosley, B. Position paper on the scope and thrusts of nutrition education. *J. Am. Diet. Assoc.*, 72: 302-305, 1978.
3. Gerard, J. W. & L. Tan. Hazards of formula feeding. *J. Human Nutri-*

- tion, 3: 20-25, 1978.
4. Berg, A. Educating for better nutrition. En: **The Nutrition Factor**. Washington, D. C., The Brookings Institute, 1973, p. 74-88.
 5. Fugselang, A. **Applied Communications in Developing Ideas and Observations**. Uppsala, Sweden, Dag Hammersjold Foundation, 1973.
 6. Simmons, J. (Ed.). **Making Health Education Work**. Chapter III. **Participation and involvement, crucial ingredients**. Washington, D. C., Am. Pub. Health Assoc., Inc., 1976, p. 25-38.
 7. Williams, C. Grassroots nutrition or consumer participation. **Dietet. Assoc.**, 63: 125, 1973.
 8. Williams, C. La participación en la comunidad. **Boletín PIA/PNAN No. 7**, p. 1, 1980.
 9. Manhoff, R. The mass media contribution to intervention programs. En: **Nutrition National Development and Planning**. A Berg, N. S. Scrimshaw and D. Call. Cambridge, Massachusetts, The MIT Press, 1973, p. 219-220.

BIBLIOGRAFIA LATINOAMERICANA

BRASIL

Nutritional and processing evaluation of soybean (*Glycine max* (L) Merrill) introduced germplasm (Avaliação nutricional e tecnológica de material de soja (*Glycine max* (L) Merrill) introduzido.— Alfredo Lam-Sánchez, José Fernando Durigan, José Eduardo Dutra de Oliveira and Ricardo Bressani (Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias—UNESP—Jaboticabal, SP, Brasil, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto —USP— Ribeirão Preto — SP, Brasil, and Institute of Nutrition of Central America and Panama (INCAP), Guatemala, C.A. Científica, São Paulo, 10(1): 87-97, 1982.

The present work had as objectives to make chemical, nutritional and processing evaluations in soybean germplasm previously introduced and agronomically tested in Jaboticabal. From the results obtained, it can be verified that oil and protein contents were influ-

enced by the plant genotype and environmental conditions. The biological value of the soybean protein, measured by the PER method, was a consequence of the methionine content ($r = 0.60^*$); cultivar "IAC-2" presented a PER value of 2.78, and also the highest contents of methionine and lysine. The results obtained showed that soybeans are a good source of lysine, which make them ideal to be used in mixtures with cereals. With relation to processing characteristics, a high variability among genotypes was observed for the speed of water absorption; and the hydration ratio varied from 2.17 to 2.42, values presented by cultivar "Davis" and line "F 61-2926". "Davis" presented 5.90% of hard beans. The experimental time for cooking varied from 50 1/4 to 171 minutes. These values were presented by cultivars "Hardee" and "Santa Rosa". There was a negative tendency between hydration ratio and the experimental time for cooking ($r = -0.12$). 25 Ref.

Chemical composition and nutritive value of corn (*Zea mays*) in two maturation

stages (Composição e valor nutritivo de quatro cultivares de milho (*Zea mays*) em dois estágios de maturação).— Valdemiro C. Sgarbieri, E. Contreras, J. Amaya, William J. da Silva and Felix G.R. Reyes (UNICAMP, SP, Brasil). *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 2(2): 180-192, 1982.

Chemical composition and nutritive value of Nutrimaiz (suo₂), a new double mutant cultivar of maize were studied with reference to the parent (Piramex sweet, SuO₂ and Maya Opaque-2, Suo₂) and Normal Maya (SuO₂) at 20 and 60 days after pollination (DAP). The lysine content dropped from 4.0 and 4.3% at 20 DAP to 2.0 and 2.9% at 60 DAP for the Normal and Sweet maize, respectively. Opaque-2 and Nutrimaiz presented the highest lysine and tryptophan contents at both stages of maturity. Nutrimaiz and the Sweet maize had at 60 DAP the highest (8.1 and 8.5%) contents of total lipids, which was correlated with a high proportion of germ in these cultivars. Neutral lipids (90-95% of total) increased with maturation whereas glycolipids and phospholipids decreased. Linoleic (47 to 53%) is the predominant fatty acid followed by oleic (25-35%) and linolenic and stearic (1-3%) each. The tocopherols increased while the carotenes decreased with maturation. The Sweet maize and

Nutrimaiz contained a higher soluble sugar content than Normal and Opaque-2. Protein nutritive value, PER and rate of growth for the rats for Opaque-2 and Nutrimaiz at both stages of maturity were similar and close to casein. PER values, lower for Normal and Sweet maize than for Nutrimaiz at 20 DAP, decreased even further with maturation. 29 Ref.

Elaboration of sauerkraut with cabbage "Matsukase" (*Brassica oleraceae L. var. capitata L.*) in different maturation stages: centesimal composition and sensorial analysis (Elaboração de chucrute com repolho "Matsukase" (*Brassica oleraceae L. var. capitata L.*) em diferentes estadios de maturação: composição centesimal e análise sensorial).— José Santo Goldoni, Aparacida Alves da Silva, Martha Maria Mischan, Ismael Antonio Bonassi e Norberto da Silva (UNESP, Botucatu, SP, Brasil). *Ciencia e Tecnologia de Alimentos*, 2(2): 194-207, 1982.

The objective of the present work was to verify the centesimal composition and the organoleptic properties, in a study carried out with cabbage's cultivar "Matsukase" in different ripening stages, regarding sauerkraut production under natural lactic acid fermentation,

with controlled temperature ($19 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$). Through the results obtained, no stressed centesimal composition differences among the samples harvested in the ripening stages studied, was verified. In the produced sauerkrauts, changes occurred in composition; however, they were similar for all treatments. The statistical analysis of the results obtained from the sensorial evaluation of the sauerkrauts, showed no significant difference among the treatments for all organoleptic characteristics studied, at the 5% level of probability; the same was true for the general quality (arithmetical means of all characteristics). 30 Ref.

Research into microorganisms in salads prepared with mayonnaise obtained in restaurants, snack bars and "rotisseries." (Pesquisa de alguns grupos de microrganismos em saladas com maionese adquiridas em restaurantes, lanchonetes e "rotisseries").— Sirdeia Maura Perrone Furlanetto, Ananias Azevedo Lacerda e Maria Lucia Cerqueira-Campos (Instituto de Ciências Biomédicas da USP "Setor Saúde Pública", São Paulo, Brasil, e Faculdade de Farmácia da Universidade Federal da Bahia, Bahia, Brasil). Rev. Saúde públ., S. Paulo, 16: 307-316, 1982.

Twenty samples of mayonnaise-

prepared salads obtained in restaurants, snack bars and "rotisseries" were analyzed for total plate count of mesophilic and psychrophilic bacteria, yeasts and moulds, enumeration and isolation of *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, the MPN of totally coliform bacteria, *Escherichia coli* and fecal streptococci as well as for investigation into the occurrence of *Salmonella*. It was found, in total counts of coliform and streptococci, that numbers were high in many samples, showing the occurrence of contamination probably during the handling of the food. All the analyzed samples were positive to total coliforms as well as to *Escherichia coli* and fecal streptococci showing that the food had, at some point, suffered pollution of fecal origin. *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus* in varying proportions were found in different samples. All the samples were showed to be negative for *Salmonella*. 27 Ref.

"Index of food quality": for the assessment of diets ("Índice de qualidade do alimento": uma medida da qualidade e da adequação de dietas).— Igeez Salas Martins (Faculdade de Saúde Pública da USP — São Paulo, SP — Brasil). Rev. Saúde públ., S. Paulo, 16: 329-336, 1982.

The "Index of Food Quality" (IFQ) and the discussion of some of

its possible applications are presented. To this end, and using the IFQ, the nutritional potential of some typical S. Paulo diets was analyzed. The usefulness of the IFQ in the preparation of menus, in the planning of school snacks, in enrichment and supplementary feeding programs, and in nutrition educational activities, are also emphasized. 12 Ref.

CHILE

Estado nutricional de menores de 5 años controlados en el Consultorio "La Pincoya".— Ignacio Hernández N., Carlos Ríos O., Haydee Sepúlveda e Ilse López (Hospital Roberto del Río y Facultad de Medicina de la Universidad de Chile). *Pediatría*, 25 (Nos. 3 y 4): 97-102, 1982.

En el presente estudio se analiza el estado nutricional de la población infantil bajo control en el consultorio La Pincoya, a las edades de 3, 5, 8, 12 y 18 meses, 2, 3 y 4 años. Para ello se aplican las tablas de peso/edad y peso/talla Sempé. Se encontró que más de la mitad de los niños son hijos de madres, que al momento del parto tenían entre 20 y 30 años; que en los hijos de madres de más de 25 años se observa un mayor peso de nacimiento, tanto en hombres como mujeres; un alto porcentaje de exceso de peso, especialmente en niños menores de

8 meses; un nivel de desnutrición que va desde 5.3% a los tres meses a 16% a los 12 meses, manteniéndose alrededor del 10% a los 4 años; 64.8% de niños normales en su peso en relación a la edad, y 2.6% de niños obesos, así como 11.1% de niños con sobrepeso. 9 Ref.

COLOMBIA

Tecnología apropiada en salazón de pescado.— Félix Moncada R. y Guillermo Sarmiento A. (Instituto de Investigaciones Tecnológicas, Bogotá, Colombia). *Tecnología*, No 135, p. 7-21, 1982.

Los ensayos sobre salazón y secado del pescado efectuados a escala de laboratorio y a escala artesanal, han permitido derivar las siguientes conclusiones:

Para evitar o retardar en lo posible las alteraciones que se presentan durante la elaboración del pescado salado, se han hecho las siguientes contribuciones tecnológicas al método artesanal, las cuales buscan en el producto final una calidad comparable a la que presentan pescados secos cuya tecnología y calidad son reconocidas comercialmente como excelentes: pescado proveniente de captura lo más reciente posible; salazón en salmuera saturada; empleo de agua limpia y potable para el lavado del pescado y la preparación

de la salmuera; esta última debe purificarse y una vez usada, tratarse convenientemente para la salazón siguiente; tratamiento fungistático para retardar la alteración ocasionada por microorganismos, y deshidratación del pescado salado-verde en el túnel secador.

Es factible construir un túnel secador, sencillo y económico para aprovechar las condiciones ambientales de las localidades donde hay una notable actividad artesanal en el curado del pescado.

Las mejoras y prácticas técnicas modificadas y adicionadas al método artesanal tradicional, fueron ampliamente aceptadas por los pescadores, por cuanto se disminuye notoriamente el tiempo de salazón, se recupera buena proporción de la sal usada, y al emplear el túnel secador para la deshidratación, no hay nece-

sidad de guardar el pescado durante el secado.

El pescado salado y secado por el método usado en las demostraciones de campo, mereció una alta aceptación de gustatoria, según el ensayo efectuado entre familias de pescadores, por cuanto se ha mejorado el aspecto, sabor y textura del pescado reconstruido. La comunidad seleccionada consume con cierta regularidad esta clase de pescado y, por lo tanto, el resultado es más significativo. También se efectuó el ensayo de aceptación en la localidad donde se realizó la demostración de campo, por haberse encontrado que la especie bocachico es la de mayor abundancia y permanencia de captura en la región donde el salado alcanza la mayor producción. 15 Ref.

NUEVOS LIBROS

Administración de Sistemas de Salud. Dos tomos. Dres. Armando Cordera y Manuel Bobenrieth, Washington, D.C., Organización Panamericana de la Salud, 1983.

A continuación se cita textualmente, la revisión que de esta importante obra hizo el Dr. Juan Carlos Veronelli, Asesor en Desarrollo de los Servicios de Salud, OPS/OMS. Ambos autores, de México, el primero, y de Chile, el segundo, prestan servicios a la Organización Panamericana de la Salud en la actualidad, en carácter de Consultor Temporero en Washington, D.C., y de la OMS en Ginebra, Suiza, y Jefe de la Oficina de Publicaciones Biomédicas y de Salud de la OPS/OMS, en Washington, D.C., respectivamente.

Dice el Dr. Veronelli con respecto a esta nueva publicación: "La obra de los doctores Cordera y Bobenrieth tiene características excepcionales. La amplitud temática excede el ámbito de una disciplina para abarcar el de un área problema del mundo real: la administración de los servicios de salud en todas sus dimensiones.

Las obras de esta amplitud suelen ser fruto de la colaboración de múltiples autores, la cual determina diversidad de enfoques y criterios y variedad y estilos. Cordera y Bobenrieth han logrado unidad en el estilo y su larga experiencia con alumnos de todos los países latinoamericanos les ha permitido coleccionar un lenguaje de gran precisión y sencillez. Criterios uniformes facilitan la lectura y la comprensión, sin reducción de la oferta bibliográfica ni rebaja del adecuado nivel de abstracción.

El glosario constituye un rasgo notable que facilita el tránsito por la 'jungla semántica' de la administración de las últimas décadas. Se trata, en síntesis, de un aporte trascendente para la formación o el perfeccionamiento en administración de servicios de salud de estudiantes y profesionales latinoamericanos."

Para obtener el libro, los lectores pueden dirigirse al Dr. Manuel Bobenrieth, 8813 Cold Spring Road, Potomac, Md. 20844, USA, e incluir giro bancario por la suma de US\$30.00 el ejemplar, que incluye su envío postal.

The Decline of the Breast. An Examination of Its Impact on Fertility and Health and Its Relation to Socioeconomic Status. Michael C. Latham (Ed.) Ithaca, N.Y., Cornell University, 1982. 79 p. Precio: US\$3.00. (Cornell International Nutrition Monograph Series No. 10).

Esta interesante monografía, la décima de la serie, consiste de tres artículos separados pero relacionados entre sí. Estos son: "La Relación de la Alimentación Materna con la Fertilidad Humana" por M.C. Latham; "Estrategias Adecuadas para Mejorar la Alimentación de Lactantes y Niños Pequeños", por un Grupo de Trabajo de la Universidad de Cornell, y "Opciones para la Alimentación de Lactantes, a Utilizar por Mujeres Profesionales de Bangkok" por P. Van Esterik.

Ejemplares de este volumen, así como de las nueve monografías precedentes, la primera de las cuales se publicó en 1974, pueden solicitarse del Dr. Michael C. Latham, Division of Nutritional Sciences, Savage Hall, Cornell University, Ithaca, New York 14853, USA.

The Decline in Breastfeeding: An Analysis of the Role of the Nestlé Corporation from Two Perspectives. Carolyn E. Campbell. Ithaca, N.Y., Cornell University, 1982, 61 p. Precio: US\$3.00 (Cornell University International Nutrition Monograph Series No. 11).

En esta monografía se analiza en términos de las ideologías conflictivas, marxismo y capitalismo, el creciente influjo que ha venido cobrando la alimentación por biberón.

Se hace un recuento histórico del descenso observado en la alimentación materna, especialmente en relación con el sistema de mercado económico libre, y el dominio que los hombres ejercen en las mujeres en la mayor par-

te de las sociedades. Como vehículo para el enfoque de estas importantes cuestiones, la autora utiliza la curva ascendente de la Corporación Nestlé, desde sus inicios, como pequeña empresa suiza, hasta convertirse en lo que hoy día es, una corporación multinacional gigantesca. Se sugiere que la pérdida de control de las mujeres sobre sus propias vidas y cuerpos está vinculada tanto con el capitalismo como con los cambios en las prácticas de alimentación del lactante. En realidad, es una monografía estimulante a la vez que provocativa. Puede obtenerse ya, solicitándola del Dr. Latham a la dirección indicada en la reseña anterior.

OTRAS PUBLICACIONES

Según es de conocimiento general, el tema de la lactancia materna ha cobrado gran actualidad. Por este motivo, seguidamente se incluyen los títulos y breves reseñas en relación a dos boletines que juzgamos de importancia en este relevante aspecto:

Breastfeeding Abstracts. A Newsletter for Health Professionals. Winter 1983, Vol. 2, No. 3. Published Quarterly by La Leche League International.

El boletín incluye un interesante editorial de los Dres. Derrick B. Jelliffe, M.D., LLLI Professional Advisory Board, y E.F. Patrice Jelliffe, MPH, el cual se titula "Supporting breastfeeding: a new dimension in obstetrics". Los temas abordados en este número son: "leche materna para niños prematuros; alimentación materna no suplementada y crecimiento óseo", y "factores que influyen en las madres en su selección de métodos de alimentación".

Los interesados pueden solicitar la información del caso dirigiéndose a: *Breastfeeding Abstracts*. La Leche League International, 9616 Minneapolis Avenue, Franklin Park, IL 60131, USA.

Madres y Niños. Boletín sobre Alimentación Infantil y Nutrición Materna. Publicado por la Asociación Americana de Salud Pública. Vol. 3, No. 1, enero de 1983 (ISSN 0275-8970).

Este otro boletín contiene datos importantes que se abordan a manera de reseñas. El número que hemos tenido a la vista, por ejemplo, contiene una sección titulada "Amamantamiento" que enfoca la "información sobre lactancia materna en Kenya" y la "solución de los problemas de lactancia materna". La segunda sección incluye "Informes sobre el trabajo de campo" en el Pacífico del Sur, Paquistán y "Preguntas y Respuestas". Otra, dedicada a la "Nutrición Materna", informa sobre el "mejoramiento de la nutrición

materna - Estudios recientes” en la que se incluye breves resúmenes de varios artículos sobre el tema, y por último, la sección “Recursos” del Centro de Documentación sobre Alimentación Infantil y Nutrición Materna, destinada a conferencias, capacitación, nuevas publicaciones, y legislaciones vigentes en Tailandia, Malawi y Fiji.

Se sugiere a los interesados inquirir al respecto en la siguiente dirección:
Madres y Niños. American Public Health Association, 1015 11th Street, N.W.,
Washington, D.C. 20005, USA.

NOTAS

RESUMEN DEL PROGRAMA DE ACTIVIDADES DE LA SOCIEDAD CHILENA DE NUTRICION EN 1983

Por cortesía del Dr. Eduardo Atalah S., actual Presidente de la Sociedad en referencia, nos hemos enterado que en enero del presente año se realizó una votación para renovar el Directorio en la cual participaron 54 socios. El resto lo integran los siguientes: Dra. Digna Ballester C., Vice-Presidente, Sra. Annabella Rebolledo A., Secretario, Dr. Nicolás Velasco F., Prosecretario, y Sr. Rolando Chateaufneuf D., Tesorero, y Dra. María Teresa Zuccarelli P., Protesorero.

La Sociedad se trazó un programa de actividades a desarrollar durante 1983, que incluye, entre otras, la reanudación de la publicación de la *Revista Chilena de Nutrición*, con un tiraje de 400 ejemplares. Se trabaja activamente en los arreglos relacionados con la presentación rutinaria de conferencias de importancia. Por otro lado, la Sociedad Médica ha organizado un Seminario de Asistencia Nutricional Intensiva, coordinado por el Dr. Nicolás Velasco, el cual se celebrará en Santiago el 12 de agosto. Asimismo, en vista que la Sociedad Chilena de Nutrición cumple 40 años de su fundación, se está gestionando la realización de una Jornada de uno o dos días de duración, en base a mesas redondas y conferencias.

WESTERN HEMISPHERE NUTRITION CONGRESS VII
Doral-on-the-Ocean Hotel, Miami Beach, Florida
August 7-11, 1983

Este importante Congreso, que se celebra anualmente a nivel internacional, es auspiciado por la Asociación Médica Americana.

Este año, se espera la participación de más de 1,000 nutricionistas, educadores en salud, expertos y administradores de programas de salud pública y saneamiento, inmunólogos, pediatras, sociólogos, agrónomos, tecnólogos en alimentos, dietistas, enfermeras y especialistas médicos procedentes de más de 30 países de América Latina y Europa.

El tema central del programa de este VII Congreso de Nutrición del Hemisferio Occidental será el de "Desnutrición: Determinantes y Consecuencias". Los tópicos de los Simposios incluyen: desnutrición en el Hemisferio Occidental; la diada materno-infantil; nutrición y comportamiento; efectos de la urbanización y cambios demográficos; nutrición y las respuestas inmunitarias; determinantes de la ingesta alimentaria individual; impedimentos al uso incrementado de tecnología; subnutrición: determinantes y consecuencias; estudio de un caso en el Caribe; desnutrición yatrogénica; medicina popular y tratamiento propio; la búsqueda de soluciones a la desnutrición.

En términos generales, el objetivo del Congreso es proporcionar un foro multidisciplinario para los profesionales que luchan por encontrar soluciones a los diversos problemas relacionados con la nutrición y el abastecimiento de alimentos. Se definirán los problemas principales de desnutrición en el Hemisferio y los participantes examinarán sus orígenes y consecuencias, definiendo el papel de las diferentes disciplinas a desempeñar en la solución de estos problemas.

Los interesados en participar en este evento pueden solicitar un folleto y formularios de registro así como reservación de hoteles, del Food and Nutrition Program, American Medical Association, 535 North Dearborn Street, Chicago, Illinois 60610, USA.

FOURTH INTERNATIONAL CONGRESS ON OBESITY
October 5-8, 1983, The Sheraton Centre, New York, N.Y., USA

Este evento es patrocinado por la American Medical Association, American Society for Clinical Nutrition, The New York Academy of Medicine, North American Association for the Study of Obesity y el American Institute of Nutrition.

Más de 2,500 científicos, investigadores médicos y dietistas de renombre mundial procedentes de más de 45 países se darán cita en este Cuarto Congreso Internacional sobre Obesidad.

Se revisará la información sobre los últimos acontecimientos investigativos de los peligros, causas y tratamiento de la obesidad —desorden que se considera como el problema nutricional más común en el Mundo Occidental. Se abordará el estado del arte mediante conferencias e informes de investigaciones originales, que implican una variedad de enfoques y disciplinas.

Entre los temas a discutir se encuentran los siguientes: enfoques quirúrgicos al tratamiento de la obesidad; un análisis de las dietas terapéuticas más comunes; el papel del metabolismo energético en la inducción y mantenimiento de la obesidad; enfoques farmacológicos para regular el metabolismo; aspectos psicológicos, y métodos actuales del control médico de pacientes obesos.

En total, se presentarán más de 400 artículos científicos, y proporcionará a los participantes la oportunidad de cubrir un amplio espectro de temas nutricionales que despertarán el interés mundial en los años futuros.

Mayores detalles sobre el particular pueden obtenerse del Dr. Brent M. Jaquet, Public Affairs Coordinator, Fourth International Congress on Obesity, ASCN, 9650 Rockville Pike, Bethesda, MD 20814, USA.



VOLUMEN 32

TURRIALBA

REVISTA INTERAMERICANA DE CIENCIAS AGRICOLAS

TRIMESTRE ABRIL-JUNIO 1982

NUMERO 2

Editor Asociado: ALFREDO ALVARADO
Asistente Editorial: FLOR ARAYA S.

CONTENIDO

	Página
<i>Efecto de fungicidas sobre la conservación de semilla de maíz previamente invadida por hongos de bodega (en español)</i> Ernesto Moreno M., Jorge Ramírez G., Manuel Mendoza, Gustavo Valencia	97
<i>Características del tallo y la raíz de especies de Coffea (en inglés)</i> Jamsheed Ahmed, C. S. Srinivasan, S., Vishveshwara	103
<i>Control químico de malezas en arroz (Oryza sativa L. cv. Inti) de trasplante con herbicidas granulados (en español)</i> Luis Cerna B., José Díaz C.	111
<i>Aumento del diámetro de árboles en el bosque montano alto de Puerto Rico (en inglés)</i> Peter L. Weaver	119
<i>Relación diámetro de copa-diámetro altura de pecho para Pinus oocarpa, Schiede, en Siguatepeque, Honduras (en español)</i> Iivylán Castañeda, César Alvarado, Rodolfo Díaz, Carolina de Alvarado, Conrado Valdés	123
<i>Efecto de dietas a base de harina de yuca suplementadas con metionina sobre el rendimiento, canal y peso de algunos órganos de cerdos en etapa de crecimiento y acabado (en inglés)</i> E. B. Sonaiya, T. A. Omole, A. A. Adeghola	131
<i>Influencia del manejo de dos suelos del trópico húmedo sobre sus propiedades químicas (en español)</i> Roberto Serpa V., Elenes Bornemisza	137
<i>Estudio comparativo de cultivares de repollo (Brassica oleracea L. var. capitata L.) con relación a la producción de repollo fermentado: carbohidratos solubles, ácidos total, pH y tiempo de fermentación (en portugués)</i> J. S. Goldoni, J. A. Bonassi, F. A. D. Conceição	149
<i>Análisis de la relación clima-agua de algunos cultivos como apoyo a la calendarización y cuantificación del agua de riego (en español)</i> Juan D. Vega, Francisco Cantú	155
<i>Investigación sobre la posible inoculación cruzada entre algunas cepas de Rhizobium de caupi y diferentes grupos de cultivares de caupi (en inglés)</i> Olu Odeyemi, M. O. Fife, A. T. Abiola	161
<i>Identificación de progenies y progenitores por el análisis del número cromosómico en Saccharum (en español)</i> Adclaida Barreto, Jean-Pierre Simon	169
<i>Germinación de la semilla de Parkia imperatoria (en inglés)</i> E. O. Fejere, M. O. Fawole, A. Sani	181
<i>Uso de harina de yuca y de harina de cáscara de yuca en la alimentación de cerdos en las etapas de crecimiento y acabado (en inglés)</i> E. B. Sonaiya, T. A. Omole	187
<i>Determinación de S cambiable del suelo por el método colorimétrico del metilnitrato azul (en portugués)</i> V. C. Bittencourt, L. F. Batista, M. N. A. Gurgel, D. A. Córdova	195
Comunicaciones	205
<i>Recolección de yucas silvestres (Manihot spp.) en Brasil (en español)</i> Ngib M. A. Nassar	205
<i>Disminución de la plaga de escarabajos en frijol y caupi intercalados con bananos en Costa Rica (en inglés)</i> Stephen J. Risch	210
<i>Área foliar y su relación con la longitud del peciolo en yuca (en inglés)</i> T. Ramanujam	212
<i>Estudio del uso de subproductos de cacao en alimentación animal. I. Respuesta de ratas destetadas a varios niveles de inclusión de cáscara (en inglés)</i> W. S. Alhassan, R. B. Nasawa	214
<i>Efecto de las sales sobre la actividad in vivo de la reductasa del nitrato en plántulas de mani (Arachis hypogaea) (en inglés)</i> G. Rama Gopal, G. Rajeswara Rao	216

/CONTENIDO/

/ Editorial /

<i>Philip M. Fearnside y Judy M. Rankin:</i> JARI Y CARAJÁS: EL FUTURO INCIERTO DE LAS GRANDES PLANTACIONES DE SILVICULTURA EN EL AMAZONÁS	326
---	-----

/ Artículos /

<i>Philip M. Fearnside y Judy M. Rankin (inglés):</i> LA NUEVA JARI: RIESGOS Y PERSPECTIVAS DE UN GRAN DESARROLLO AMAZONICO	329
--	-----

<i>Simão Mathias (portugués):</i> EVOLUCION DE LA INVESTIGACION CIENTIFICA EN BRASIL	340
---	-----

<i>Milton Vargas (portugués):</i> EVOLUCION DE LA TECNOLOGIA EN BRASIL	344
---	-----

/ Instituciones de América /

<i>Guilardo Martins Alves (portugués):</i> LA FUNDACION DE OSWALDO CRUZ SE MODERNIZA PARA ATENDER LOS PROGRAMAS DE SALUD DE BRASIL	354
---	-----

/ Cabildo Abierto /

<i>Ernesto Medina (inglés):</i> DEFORESTACION DE LA SELVA TROPICAL	357
---	-----

<i>Norman Myers (inglés):</i> RESPUESTA A LA CRITICA LUGO-BROWN SOBRE "CONVERSION DE BOSQUES HUMEDOS TROPICALES"	358
---	-----

<i>Ariel E. Lugo y Sandra Brown (inglés):</i> REPLICA A LA "RESPUESTA A LA CRITICA LUGO-BROWN POR MEYERS"	360
--	-----

<i>Ralph J. Hervey (inglés):</i> EXPLOTACION Y CONSERVACION SIMULTANEAS DE BOSQUES TROPICALES	361
--	-----

<i>Ariel E. Lugo y Sandra Brown (inglés):</i> DEFORESTACION DE LA AMAZONIA BRASILEIRA	361
--	-----

<i>Philip M. Fearnside (inglés):</i> REPLICA A LA CRITICA DE LUGO-BROWN SOBRE LA DEFORESTACION DE LA AMAZONIA	362
--	-----

/ Ciencia y Tecnología Hoy /

<i>Ibelis Velasco (español):</i> ALGUNOS HECHOS Y MUCHAS IMPRESIONES SOBRE LA CIENCIA Y LA TECNOLOGIA EN VENEZUELA (Parte II)	363
--	-----

/ Internoticias /

<i>Publicaciones /</i>	375
------------------------	-----

DEVELOPING OF THE AMAZON - <i>Crítica de Paul Henley (inglés)</i>	376
---	-----

BEGINNINGS OF BRAZILIAN SCIENCE - <i>Crítica de Hebe Vezzuri (español)</i>	376
--	-----

/ Resumen de los Artículos /

	380
--	-----

PORTADA
 María Luisa Pacheco (Bolivia, 1919). *Crucifixión*, 1960, óleo sobre tela, 152,8 x 122,4 cm. Colección Museo de Bellas Artes de Caracas, Venezuela.
 La obra de María Luisa Pacheco no puede concebirse aislada de su topografía y la belleza de los paisajes bolivianos, de la lindeza de su clima y de las alturas de esas regiones; su técnica se anuda a los espacios y al legado de los pueblos de la zona del Altiplano.

En *Crucifixión* hay un contenido dramático que se ha mantenido aun después de la etapa realista de María Luisa Pacheco; su peculiar manera de usar los colores hace que haya una íntima unidad entre forma y temática.
 Comentario: *Catálogo General Colección Pintura y Escultura Latinoamericana, Museo de Bellas Artes de Caracas*, pág. 153, Caracas, 1979 / Reproducción: cortesía del Museo de Bellas Artes de Caracas / Fotografía: Hernán Araujo / Separación de colores: Fotografiado Vene.

Se agradece la valiosa ayuda que al mantenimiento de esta Revista prestan las siguientes instituciones y entidades comerciales.

ENTIDADES PATROCINANTES

Instituto Nacional de Nutrición de Venezuela (Caracas, Venezuela)
Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP)
(Guatemala, Guatemala)
BRANCA (Caracas, Venezuela)
ESPALSA, Especialidades Alimenticias S. A. (PRODUCTOS
NESTLE Y GUIGOZ) (Caracas, Venezuela)
Asociación Americana de Soya (México, D. F., México)
GERBER, Venezolana de Alimentos C. A. (Caracas, Venezuela)
Alimentos Kellogg S. A. (Caracas, Venezuela)
INDULAC, Industria Láctea Venezolana C. A. (Caracas, Vene-
zuela)
Fundación Polar (Caracas, Venezuela)
FERMEX, Fermentaciones Mexicanas, S. A. de C. V. (México,
D. F., México)
Complementos Alimenticios S. A. (Edo. de México, México)
F. Hoffmann – La Roche & Co. (Basilea, Suiza) (PRODUCTOS
ROCHE)



FERMENTACIONES MEXICANAS, S. A. de C.V.

Homero 418

Tel. 250-68-77

México 5, D. F.

**Telex: FERME-001771501
México**

**NO PIENSE EN PROTEINAS
PIENSE EN AMINOACIDOS**

**PRIMER FABRICANTE DE AMINOACIDOS EN
LATINOAMERICA PARA ALIMENTACION
ANIMAL**

L-Lisina

DL-Metionina

COMPLEMENTOS ALIMENTICIOS S. A.
Calzada de la Naranja No. 157
Naucalpan, Edo. de México
México

Tel. 5768199, 3581802

PRODUCTOS:

- EXTRACTO DE MALTA (POLVO Y JARABE)**
- TOMATE EN POLVO**
- MALTODEXTRINAS EN POLVO**
- GLUCOSA ANHIDRA**

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 deber 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 en 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 % 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:

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

11. *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 PÁGINA

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).

**Este libro se terminó de imprimir
en los Talleres Gráficos del INCAP,
Guatemala, C. A., el 31 de octubre de 1983**

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. Alfredo Lam-Sánchez – Presidente
Dr. Sergio Valiente – Vicepresidente
Dr. Helio Vannucchi – Secretario
Dr. José Fernando Durigán – Tesorero
Dr. Cecilio Morón – Vocal
Dr. Alvaro Oscar Campaña – Vocal
Dr. Víctor Valverde – Vocal
Dra. Elisa M. Quintana – Vocal
Dra. Wanda I. Torres de Rivera – Vocal
(Consejo Directivo 1983-1984)

Dirección actual hasta el 31 de diciembre de 1983
Departamento de Fitotecnia
Faculdade de Ciencias Agrarias e Veterinarias
Universidade Estadual Paulista (UNESP)
14. 870 – Jacoticabal – São Paulo, Brasil

DIRECTORIO DE ARCHIVOS LATINOAMERICANOS DE NUTRICION

Integrado por miembros de la Sociedad Latinoamericana de Nutrición
Editor General: Dr. Ricardo Bressani
Editor Asistente: Dr. J. Edgar Braham
Editores Asociados: Dr. Guillermo Arroyave
Dr. José Aranda-Pastor
Jefe, Oficina Editorial y de Publicación: Sra. Amalia G. de Ramírez
Encargada de Asuntos Administrativos: Sra. María Eugenia de Martínez

MIEMBROS DEL CUERPO EDITORIAL – PERIODO 1983–1984

Dr. Héctor Araya	Dr. Miguel A. Guzmán
Dra. Julia Araya	Dr. Franco M. Lajolo
Dr. Antonio Bacigalupo	Dr. Alfredo Lam-Sánchez
Dr. José Belizán	Dr. Reynaldo Martorell
Dr. Héctor Bourges	Dr. Leonardo Mata
Dr. J. Edgar Braham	Dr. Luiz A. Mejía
Dr. Ricardo Bressani	Dra. Nelly Pak
Dr. Adolfo Chávez	Dr. Oscar Pineda
Dr. José Félix Chávez	Dra. María E. Sambucetti
Dra. Rebeca Carlota De Angelis	Dr. Juan Claudio Sanahuja
Dr. Hernán Delgado	Dr. Nelson de Souza
Dr. J. E. Dutra de Oliveira	Dr. Víctor Valverde
Dr. Luiz G. Elías	Dr. Emilio Vargas
Dr. Werner G. Jaffé	Dr. Enrique Yáñez

ARCHIVOS LATINOAMERICANOS DE NUTRICION

ORGANO OFICIAL DE LA
SOCIEDAD LATINOAMERICANA DE NUTRICION

VOL. XXXIII

JUNIO 1983

No. 2

CONTENIDO

	Pág.
EDITORIAL	241
ARTICULOS GENERALES	
The potential value of cultured dairy products for child nutrition. — <i>Ernst J. Siegenthaler</i>	247
Procedimientos básicos en el registro y proceso de datos. — <i>Miguel A. Guzmán, Ricardo Sibrán y Rafael Flores</i>	257
TRABAJOS DE INVESTIGACION	
NUTRICION EXPERIMENTAL	
Corn amino acid imbalance and the role of leucine excess. — <i>Rebeca C. de Angelis and I. C. M. Terra</i>	271
Growth, development and dental caries in rats fed two experimental diets. — <i>Jorge L. Sintés and Sanford A. Miller</i>	283
Influence of supplementation on the dental caries incidence and growth of rats fed two model diets. — <i>Jorge L. Sintés and Sanford A. Miller</i>	308
Influence of dietary iron on the dental caries incidence and growth of rats fed an experimental diet. — <i>Jorge L. Sintés and Sanford A. Miller</i>	322
CIENCIAS DE ALIMENTOS	
Efecto de la época de cosecha sobre la composición de cotiledones crudos y fermentados de dos variedades de cacao y fracciones de cascarilla. — <i>Juan de Dios Alvarado, Fernando E. Villacís y Gino F. Zamora</i>	339
Composición química, contenido de aminoácidos y valor nutritivo de la proteína de semilla de achote (<i>Bixa orellana</i> , L.). — <i>Ricardo Bressani, Florida Alma Porta-España de Barnéon, J. Edgar Braham, Luiz G. Eliás y Roberto Gómez-Brenes</i>	356
NUTRICION HUMANA	
Breast milk consumption in rural Costa Rica. — <i>Rachel Novotny and Leonardo J. Mata</i>	377
Globulina ligante de hormonas sexuales en puérperas y sus recién nacidos con desnutrición intrauterina. — <i>Santiago Muzzo, Abraham Zvaighaft y Patricio Cañas</i>	387
Desnutrición infantil: costo social por patología respiratoria y digestiva. — <i>Eduardo Atalah S., Patricia Bustos M. y Elena Gómez A.</i>	395
Nutritional status of the elderly in Palmares, Costa Rica. — <i>Diane V. Havlir, Sandra Murillo, Eduardo Robles, Alfonso Trejos and Leonardo Mata</i>	409
EDUCACION NUTRICIONAL	
Un estudio descriptivo de 43 programas de educación nutricional en Venezuela. — <i>Paulina L. Dehollain, Irene Pérez Schael y Leila Sfeir</i>	423
BIBLIOGRAFIA LATINOAMERICANA	445
NUEVOS LIBROS	451
OTRAS PUBLICACIONES	455
NOTAS	457
CONTENIDO DE LA REVISTA TURRIALBA, Volumen 32, No. 2, 1982	461
CONTENIDO DE LA REVISTA INTERCIENCIA, Volumen 7, No. 6, 1982	469
INFORMACION PARA LOS AUTORES	471