

Archivos Latinoamericanos de Nutrición (ALAN) es editado como órgano oficial de la Sociedad Latinoamericana de Nutrición (SLAN), para la divulgación de conocimientos en el campo de la alimentación y de la nutrición principalmente en el Hemisferio Americano. En sus páginas se acogen manuscritos en español, inglés, portugués y francés, tanto de miembros como de aquellos que no sean miembros de la Sociedad, y de cualquiera de las siguientes categorías: 1. Trabajos generales (revisiones científicas críticas); 2. Trabajos de investigación (originales); 3. Trabajos de nutrición aplicada (resultados analíticos de programas de intervención y discusión de recomendaciones de aplicación práctica), y 4. Cartas al Editor (comentarios cortos de interés general o relacionados con resultados o conceptos científicos publicados previamente en Archivos). Todos los manuscritos están sujetos a un proceso de arbitraje externo, orientado a preservar la calidad y excelencia de la revista.

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 Editor (short comments of general interest or about scientific facts and concepts previously published in Archives).

ARCHIVOS LATINOAMERICANOS DE NUTRICIÓN está registrado en ASEREME e indizado en las siguientes Bases de Datos: LILACS/CD ROM, Abstract on Higiene and Communicable Diseases, Chemical Abstracts, Current Contents, Dairy Science Abstracts, Field Crops Abstracts, Food Science and Technology Abstracts, Horticultural Science Abstracts, Index Veterinarius, MEDLINE, Nutrition Abstracts and Review, Nutrition Research Newsletter, Ornamental Horticulture, Plant Breeding Abstracts, Rice Abstracts, Seed Abstracts, Veterinary Bulletin y Wheat, Barley and Triticale Abstracts, entre otros.

ENTIDADES PATROCINANTES

- Fundación para la Alimentación y Nutrición "José María Bengo"**. Caracas, Venezuela
- Instituto Nacional de Nutrición**, Venezuela.
-  América Latina.
- Centro de atención Nutricional Infantil Antímamo, CANIA**. Venezuela.
- Coca-Cola Servicios de Venezuela C.A.**
-  **Kraft Foods**
Kraft Foods Venezuela, C.A.

TARIFAS DE SUSCRIPCIÓN ANUAL (Subscription rates per year)

Un volumen, 4 números (One Volumen, 4 Numbers)

Hemisferio Occidental (Western Hemisphere):

Instituciones: U.S. \$250

Personas: U.S. \$110

Otras Regiones

Instituciones: U.S. \$270

Personas: U.S. \$150

Precios por ejemplar

Hemisferio Occidental

Instituciones: U.S. \$50

Personas: U.S. \$35

Otras Regiones

Instituciones: U.S. \$55

Personas: U.S. \$40

Dirección: Archivos Latinoamericanos de Nutrición

Apartado: 62.778. Chacao, Caracas 1060. Venezuela, S.A. Tlf.: (58.212) 283.86.16 Fax: (58.212) 286.00.61

Ubicación en formato digital: <http://www.scielo.org.ve>

Correo electrónico: alanven04@hotmail.com / info@alanrevista.org

Página web: www.alanrevista.org

Bajo la responsabilidad del Capítulo Venezolano de la Sociedad Latinoamericana de Nutrición.

Diagramación y montaje: Ana María Reyes. Teléfono: (0412) 219.61.20

Portada: Chavez & López, Diseño Gráfico. Caracas, Venezuela. Teléfono: (0212) 285.55.29

Impresión: Gráficas Jaes, C.A. Caracas, Venezuela. Teléfonos: (0212) 631.61.87

Archivos Latinoamericanos de Nutrición

Órgano Oficial de la Sociedad Latinoamericana de Nutrición

VOL 66

MARZO 2016

Nº1

Contenido

Páginas

ARTICULOS GENERALES

Capability of *in vitro* digestibility methods to predict *in vivo* digestibility of vegetal and animal proteins

Fabricia Queiroz Mendes, Maria Goreti De Almeida Oliveira, Neuza Maria Brunoro Costa, Christiano Vieira Pires, Flávia Regina Passos..... 5

PERSPECTIVA

Fuentes naturales de fitoesteroles y factores de producción que lo modifican

Paola Silva, Ana C. Pinheiro, Lorena Rodríguez, Victoria Figueroa, Cecilia Baginsky..... 17

TRABAJOS DE INVESTIGACION

Nutrición Infantil

Nutritional status and cardiovascular risks in children of two schools in Bogotá, Colombia

Sorany Vera, Jenifer Tatiana Figueroa, Luz Helena Aranzález, Ismena Mockus..... 25

Fósforo sérico en niños con desnutrición grave y su relación con el síndrome de realimentación

Thais Álvarez de Acosta, Isabel Cluet de Rodríguez, Mario Rosario Rossell Pineda, María Alejandra Castillo..... 34

Salud Pública

Calidad de vida relacionada con la salud y obesidad en trabajadores de manufacturas en Jalisco, México.

José G. Salazar-Estrada, Alma Gabriela Martínez Moreno, Teresa Margarita Torres López, Carolina Aranda Beltrán, Antonio López-Espinoza..... 43

The prevalence of metabolic syndrome among students with different levels of physical activity

Jerzy Saczuk, Agnieszka Wasiluk, Jan Czezelewski, Barbara Długołęcka..... 52

Microbiología de Alimentos

Efecto antimicrobiano del extracto etanólico foliar del Neem (*Azadirachta indica* A. Juss) sobre *Listeria monocytogenes*

Luis Guillermo Ramírez Mérida, Alba Morón de Salim, Doris Reyes, Ariana Rivero, Luz A. Sánchez, Luz K. Sánchez..... 60

Ciencia de Alimentos

Evaluation of extracts from potato and tomato wastes as natural antioxidant additives

María del Carmen Robles-Ramírez, Ricardo Monterrubio-López, Rosalva Mora-Escobedo, María del Carmen Beltrán-Orozco..... 66

LatinFoods. Composición de Alimentos

Composición química de harina de calamar gigante *Dosidicus gigas*

Ma. de la Concepción Calvo, Ma. Elena Carranco, César A. Salinas, Silvia Carrillo..... 74

CARTAS AL EDITOR

Will boron be essential for human nutrition?

Anacleto Sosa Baldivia, Guadalupe Ruiz Ibarra, and Jorge D. Etchevers Barra 82

NOTAS NECROLOGICAS..... 84

INFORMACION PARA LOS AUTORES..... 85

Archivos Latinoamericanos de Nutrición

Official Publication of the Latin American Society of Nutrition

VOL 66

MARCH 2016

N° 1

Contents

Pages

GENERAL ARTICLES

Capability of in vitro digestibility methods to predict *in vivo* digestibility of vegetal and animal proteins

Fabricia Queiroz Mendes, Maria Goreti De Almeida Oliveira, Neuza Maria

Brunoro Costa, Christiano Vieira Pires, Flávia Regina Passos..... 5

PERSPECTIVE

Natural sources of phytosterols and production factors that modify them.

Paola Silva, Ana C. Pinheiro, Lorena Rodríguez, Victoria Figueroa, Cecilia Baginsky..... 17

RESEARCH PAPERS

Child Nutrition

Nutritional status and cardiovascular risks in children of two schools in Bogotá, Colombia

Sorany Vera, Jenifer Tatiana Figueroa, Luz Helena Aranzález, Ismena Mockus..... 25

Serum phosphorus in malnourished children and its relationship with the syndrome of feedback

Thais Álvarez de Acosta, Isabel Cluet de Rodríguez, Mario Rosario Rossell Pineda, María Alejandra Castillo..... 34

Public Health

Health-related quality of life and obesity in manufacturing workers in Jalisco, Mexico.

José G. Salazar-Estrada, Alma Gabriela Martínez Moreno, Teresa Margarita Torres López, Carolina Aranda Beltrán, Antonio López-Espinoza..... 43

The prevalence of metabolic syndrome among students with different levels of physical activity

Jerzy Saczuk, Agnieszka Wasiluk, Jan Czezelewski, Barbara Długolecka..... 52

Food Microbiology

Antimicrobial effect of ethanol extract of leaf neem (*Azadirachta indica* A. Juss) on *Listeria monocytogenes*

Luis Guillermo Ramírez Mérida, Alba Morón de Salim, Doris Reyes, Ariana Rivero, Luz A. Sánchez, Luz K. Sánchez..... 60

Food Technology

Evaluation of extracts from potato and tomato wastes as natural antioxidant additives

María del Carmen Robles-Ramírez, Ricardo Monterrubio-López, Rosalva Mora-Escobedo, María del Carmen Beltrán-Orozco..... 66

LatinFoods. Food Composition

Chemical composition of giant squid *Dosidicus gigas* meal

Ma. de la Concepción Calvo, Ma. Elena Carranco, César A. Salinas, Silvia Carrillo..... 74

LETTERS TO THE EDITOR

Will boron be essential for human nutrition?

Anacleto Sosa Baldivia, Guadalupe Ruiz Ibarra, and Jorge D. Etchevers Barra 82

IN MEMORIAM..... 84

INFORMATION FOR AUTHORS..... 85

Capability of *in vitro* digestibility methods to predict *in vivo* digestibility of vegetal and animal proteins

Fabírcia Queiroz Mendes, Maria Goreti De Almeida Oliveira, Neuza Maria Brunoro Costa,
Christiano Vieira Pires, Flávia Regina Passos

Federal University of Viçosa, MG, Brazil. Federal University of Espírito Santo, Brazil.

Federal University of São João Del Rei Campus of Sete Lagoas, Brazil.

Federal University of Viçosa Campus of Rio Paranaíba, Brazil.

SUMMARY. The purpose of this work was to establish predictive equations for the digestibility of proteins of animal and vegetal origin by correlating *in vitro* and *in vivo* methods. Proteins sources for animal and vegetable were used. To calculate *in vitro* digestibility, we used pH values obtained 10 min after a solution of enzymes was added to a protein solution (pH-drop method). We also used the pH-static method, which measures the volume of additional NaOH that is necessary to maintain a pH of 8.0 after the addition of an enzymatic solution. *In vivo* digestibility was measured in newly weaned male rats that were fed a diet of AIN-93G for growth with a modified protein content of 9.5% for 14 days. The equations developed using the pH-drop method allowed us to predict *in vivo* digestibility amounts that were more closely correlated with real *in vivo* digestibility than those obtained with equations using the pH-static method. *In vitro* techniques are less expensive, require less manpower and physical space, and use a smaller quantity of protein.

Key words: Protein, *in vitro* digestibility, *in vivo* digestibility, pH.

RESUMO. Correlação entre métodos de digestibilidade *in vitro* e *in vivo*. O objetivo deste trabalho foi estabelecer equações de predição para a digestibilidade das proteínas de origem animal e vegetal, correlacionando métodos *in vitro* e *in vivo*. Foram utilizadas proteínas de origem animal e vegetal. Para o cálculo da digestibilidade *in vitro* foram utilizados os valores de pH obtidos em 10 min após a adição da solução de enzimas (método de queda de pH). Também foi utilizado o método de pH estático, o qual mede o volume de NaOH adicionado, necessário para manter o pH em 8,0 após a adição de uma solução enzimática. A digestibilidade *in vivo* foi medida em ratos machos recém-desmamados que foram alimentados com uma dieta AIN-93G para crescimento com teor de proteína modificada de 9,5% durante 14 dias. As equações desenvolvidas utilizando o método de queda de pH permitiram prever em quantidades digestibilidade *in vitro* que foram mais estreitamente correlacionadas com a digestibilidade *in vivo* do que aquelas obtidas utilizando equações do método de pH estático. As técnicas *in vitro* são menos dispendiosas, exigem menos mão-de-obra e espaço físico, e utiliza uma menor quantidade de proteína.

Palavras-chave: Proteína, digestibilidade *in vitro*, digestibilidade *in vivo*, pH.

INTRODUCTION

Classical methods to determine the protein efficiency ratio (PER) include measuring nitrogen balance, biological amount, chemical score, and digestibility and protein digestibility corrected amino acid score (PDCAAS). PDCAAS was introduced by FAO/WHO in 1985 and is the accepted measure for evaluating protein quality. PDCAAS is defined as the relationship between the content of the first amino acid limiting protein (mg/g) and the content of that amino acid in a reference protein (mg/g) multiplied by

true digestibility. The standard of reference is based on the necessity of essential amino acids for children between 2 and 5 years old, as defined by the FAO/WHO (1985) (1,2).

The digestibility of protein is determined as a function of the ingested nitrogen fraction that the animal absorbs. True digestibility is obtained by measuring the difference between the amount of ingested nitrogen and the amount of nitrogen in faeces. This figure is corrected by examining the quantity of fecal nitrogen that an individual excretes when consuming a diet free of protein (3, 4).

Several factors may influence the digestibility of a protein, including the presence of compounds within the aliment, such as anti-nutritional factors, or external factors, such as processing and storage (5). The reduction of anti-nutritional factors by different methods of food processing or by genetic improvement may change protein digestibility. However, performing *in vivo* tests to evaluate the digestibility of each processing change in foods or to evaluate each new difference in processing are both expensive and time-consuming. *In vitro* methods may predict digestibility variations due to changes in food processing more quickly and economically than *in vivo* methods.

The majority of methods for determining *in vitro* digestibility are based on the digestion of samples by proteolytic enzymes under standard conditions. The number and nature of enzymes used for the final measurement of digestibility vary among methods (6).

The purpose of this work was to determine the *in vivo* digestibility of different proteins and to perform equation adjustments to establish their *in vitro* digestibility according to different methods.

MATERIALS AND METHODS

Preparation of the samples

The following protein sources were used: commercial casein (Rhoister Indústria e Comércio Ltda, Araçoiaba da Serra, SP, Brazil), bovine meat, pork meat (SearaAlimentos, Rio Grande da Serra, SP, Brazil), chicken meat (PifPafAlimentos, Visconde do Rio Branco, MG, Brazil), fish meat, frog meat without bone, mechanically separated frog meat, frog meat with bone (Criação Experimental da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, Brazil), instant powdered milk (NestléBrasilAlimentos, Araçatuba, SP, Brazil), whey protein (Pura Maximus 80%, Viçosa, MG, Brazil), rice, beans, soya bean, quinoa, textured vegetable protein, oat, maize (ground), and wheat (flour) (SupermercadoEscola, Viçosa, MG, Brazil).

Meats from chicken (chest without skin), pork (hind leg without apparent fat), and fish (hake filet) were boiled in water in saucepanmoist heat to 100°C in a proportion of 1:1 (p/v), for about 40 min, until they absorbed all of the water. After cooking, the meats were frozen at -18°C, dehydrated in a freeze-drying machine for 24 h, grinded in a food processor, and sifted in a 1-mm sifter.

Grains of polished white rice, were cooked in water in a saucepan. Bean cv. 'Pérola' were cooked in a pressure cooker for 40 min. After cooking, both grains were dried at 60°C in a sterilizer with air circulation (Tecnal brand, TE-394/2 model, Piracicaba, SP, Brazil) for 24 h. The grains were then ground in a food processor (Arno brand, FP15 model, São Paulo, SP, Brazil), and sifted in a 1-mm sifter to produce rice flour.

Soya beans were submitted to thermal treatment by dry heat at 89°C in a sterilizer with air circulation (Tecnal brand, TE-394/2 model, Piracicaba, SP, Brazil) for 5 min. The grains were ground in a food processor and then sifted in a 1-mm sifter to produce soya flour.

Quinoa, textured vegetable protein and oat was ground in a food processor (Arno brand, FP15 model, São Paulo, SP, Brazil) and sifted in a 1-mm sifter.

In vivo digestibility data for bovine meat, frog meat without bone, mechanically separated frog meat, frog meat with bone, beans, maize (ground maize), textured vegetable protein, and wheat (flour) were obtained according to Pires et al. (6).

Nitrogen content determination

The protein content of each sample was determined using the Kjeldhal semi-micro method according to the AOAC (7). Different factors were used in the calculation of nitrogen conversion to protein: instant powdered milk factor 6.38; rice factor 5.95; soya factor 6.25; oat and wheat (flour) factor 5.83; and other protein sources factor 6.25 (8).

Biological testing

Non-protein diet, casein diet (standard), and test diets were prepared with the studied protein samples, as shown in Table 1. The composition of the diets was based on AIN-93G for growth, according to Reeves et al. (9), with an adjusted protein content of 9% to 10% for all diets, except the rice diet, which contained 7% protein. The quantities of other diet ingredients (starch, dextrinized starch, sucrose, oil, and cellulose) were also amended based on the composition of the tested foods to determine which diets were iso-caloric and iso-protein (Table 1).

After preparation, which was determined by the protein content of each diet, diet samples were placed into polyethylene bags, appropriately labeled, and

TABLE 1. Diet composition used in the biological test (g/100 g of mixture)*

Ingredients	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7	D8	D9	D10	LN
Casein	11.47	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Rice ¹	-	82.95	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Oats ¹	-	-	52.41	-	-	-	-	-	-	-	-
Chicken meat ¹	-	-	-	12.66	-	-	-	-	-	-	-
Fish meat ¹	-	-	-	-	13.42	-	-	-	-	-	-
Pork meat ¹	-	-	-	-	-	13.15	-	-	-	-	-
Powdered milk ¹	-	-	-	-	-	-	38.36	-	-	-	-
Whey protein ¹	-	-	-	-	-	-	-	13.37	-	-	-
Quinoa ¹	-	-	-	-	-	-	-	-	73.48	-	-
Soya beans ¹	-	-	-	-	-	-	-	-	-	21.3	-
Dextrinized starch ²	13.2	-	13.2	13.2	13.2	13.2	13.2	13.2	8.53	13.2	13.2
Saccharose ³	10.0	-	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	5.93	10.0	10.0
Soya oil ³	7.0	7.0	7.0	7.0	7.0	4.37	-	7.0	7.0	3.21	7.0
Alimentary fiber (Cellulose) ²	5.0	5.0	0.33	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	-	-	5.0
Saline Mixture (AIN-93G-MX) ²	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5
Vitamin Mixture (AIN-93G-VX) ²	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
L-Cystine ²	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
Choline Bitartrate ²	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
Maize starch (q.s.p 100) ³	48.28	-	12.01	47.09	46.33	49.23	28.39	46.48	-	47.15	59.75

* According to Reeves et al. (8), modified for each protein source such, in the way that the diets were iso-caloric and iso-protein.

¹ The flour produced as from analyzed samples. ² Purchased from RHOSTER – Indústria e Comércio Ltda. ³ Supermercado Escola, Viçosa, MG, Brazil. D1: Diet with casein; D2: Diet with rice; D3: Diet with oats; D4: Diet with chicken meat; D5: Diet with fish meat; D6: Diet with pork meat; D7: Diet with powdered milk; D8: Diet with whey protein; D9: Diet with quinoa; D10: Diet with soya beans; LN: Diet without protein (Nitrogen free). q.s.p. = Sufficient quantity for complete 100g of diet.

stored in a refrigerator. A total of 66 newly weaned male Wistar rats were used. The average age of the animals was 23 days, with a weight of 50 to 60 g. The animals were obtained from the Health and Biological Sciences Center (CBB) nursery of the Federal University of Viçosa, Viçosa, MG, Brazil.

The animals were assigned to 11 groups, with 6 animals in each group. The average weight among these groups did not exceed 10g. The rats were allocated to individual cages, where they received water and food ad libitum for 14 days. The animals were maintained at $22 \pm 3^\circ\text{C}$, with 12 h of day and night. Their alimentary consumption was monitored weekly.

At the end of the experiment, the animals were euthanized with carbon dioxide and buried in a designated location at the Veterinary Medicine Department of the Federal University of Viçosa. The experiment was performed in accordance with the rules of the Brazilian College for Animal Experimentation (COBEA) and international rules described in Handbook of Laboratory Animal Science (10). Ethical and methodological aspects of this study were submitted to the Ethics Committee for Animal Research and recorded at the Federal University of Viçosa under number 50704454851.

True digestibility

To determine digestibility, the diets were dyed with indigo carmine at 100 mg/100 g and offered to the animals on the 7th and 10th days of the study. Their faeces was collected in individual pots on the 8th through 11th days and refrigerated. On the 8th day, only the dyed faeces was collected. On the 9th and 10th days, all faeces was collected. On the 11th day, only not dyed faeces was collected.

At the end of the experiment, the fecal samples were dried in a sterilizer with air circulation at 105°C for 24h. The fecal samples were then cooled, weighed, and ground in a processor (Arno brand, FP15 model, São Paulo, SP, Brazil) to determine their nitrogen concentration using the Kjeldahl semi-micro method, with triplicate samples (7).

True digestibility was calculated by measuring the quantity of nitrogen that was ingested through the subjects' diet, the quantity that was eliminated through faeces, and the metabolic loss at faeces, which corresponds to the fecal nitrogen of the group with a

non-protein diet, using the following equation (4):

$$\%Digestibility = \frac{I - (F - FK)}{I}$$

I = Nitrogen ingested by the test group.

F = Fecal nitrogen of the test group.

FK = Fecal nitrogen of the group with a non-protein diet

In vitro digestibility

Two methods of *in vitro* digestibility analysis were investigated using an enzymatic system of trypsin enzymes and pancreatine, obtained from Sigma-Aldrich, Saint Louis, Missouri, USA. The obtained equation was used to correlate the *in vitro* studies with the *in vivo* tests and predict the true digestibility through techniques that did not demand the use of animals and that yielded results with less time and cost.

An enzymatic solution of bovine trypsin enzymes (2.5 mg/mL) and pork pancreatine (1.6 mg/mL) was placed in purified water and subjected to both methods to form a solution of protein hydrolysates. The enzymatic solution was immediately prepared before each series of tests and maintained in an ice bath.

Methods described by Hsu et al. (11), with modifications (pH-drop method)

The pH-drop method is based in the correlation between the initial velocity of proteolysis and digestibility, measured via pH, using an enzymatic solution to digest the sample. The method described by Hsu et al. (11) uses trypsin enzymes, chymotrypsin, and a peptidase. In the current study, an enzymatic solution of trypsin enzymes and pancreatine was used for protein hydrolysis.

A 50-mL volume of protein suspension was prepared in distilled water (6.25 mg of protein/mL), adjusted to pH 8 with a solution of NaOH, and placed under agitation in a water bath at 37°C . A 5-mL aliquot of enzymatic solution was then added to the protein suspension, which was maintained at 37°C in the water bath. The decrease in pH was measured after the addition of an enzymatic solution at 15 s and every minute for a period of 10 min using

a digital potentiometer (Tecnal brand, TEC-2MP model, Piracicaba, SP, Brazil). Enzymatic digestion was characterized by a decrease in pH that occurred 10 min after the enzymatic solution was added. Decreases in pH after 10 min and parameter equations were used to describe the correlation between the *in vitro* digestibility and the *in vivo* true digestibility.

Methods described by Cruz et al. (12), with modifications (pH-static method)

To determine *in vitro* digestibility through the pH-static method, trypsin enzymes and pancreatine were used to prepare an enzymatic solution. This is a modification of a method described by Cruz et al. (12), which used trypsin enzymes, chymotrypsin, and pancreatine.

A 50-mL volume of protein suspension was prepared in distilled water (6.25 mg of protein/mL), adjusted to pH 8.0 with a solution of NaOH, and incubated with agitation by thermostatic bath (Tecnal brand, TE-184 model, Piracicaba, SP, Brazil) at 37°C. A 5-mL aliquot of enzymatic solution was then added to the protein suspension. Next, NaOH 0.1 mol/L was added in sufficient quantities to maintain the pH at 8.0 such that the pH did not vary by more than 0.03 units in 1 min. The 0.03 factor is based on the hydrolysis of casein, during which the pH decreases after 9 to 10 min. At this point the difference in pH is very small but not significant (12). The volume of NaOH added during the test was measured and related to enzymatic digestion by an equation that describes the volume of NaOH required to maintain a pH of 8.0. The volume of NaOH expended during the test and the equation of parameters were used to describe the correlation with *in vivo* true digestibility.

The pH amounts in the pH-drop method and the volume of NaOH used to maintain a pH of 8.0 in the pH-static method were obtained from Pires et al. (6) for samples of bovine meat, frog meat without bones, mechanically separated frog meat, frog meat with bones, beans, maize (ground maize), textured vegetable protein, and wheat (flour) and from Sant'Ana et al. (13) for samples of oats, chicken meat, fish meat, pork meat, powdered milk, quinoa, and soya beans.

Equations for *in vitro* digestibility

For both methods, several samples were analyzed to verify the effect of each protein source on digestibility.

For each method, *in vitro* digestibility was compared to a) the true digestibility of all samples; b) the true digestibility of all samples except casein; c) the true digestibility of protein samples of vegetal origin; and d) the true digestibility of protein samples of animal origin.

For the pH-drop method, the true digestibility was described as the decrease in the pH of the samples 10 min after the addition of an enzyme solution. For the pH-static method, the true digestibility was described based on the volume of 0.1 mol/L NaOH added to maintain a pH of 8.0 in the protein solution after the enzymatic solution was added.

Statistical outline

Non-linear regression was used to obtain equations for *in vitro* digestibility using the Sigma Plot program Version 8.0 (14).

RESULTS

***In vitro* digestibility**

The pH-drop method

To determine equations for *in vitro* digestibility, pH levels were recorded 10 min after the addition of a solution of enzymes. These amounts were correlated with the *in vivo* digestibility of the respective samples, and the best mathematical model to describe the system was chosen based on significant levels of r^2 (the behavior data are represented by an equation) and correlation with the biological model of digestion. The equations developed based on the pH values measured after 10 min of exposure to an enzyme solution are shown in Figure 1.

Figure 1A shows the equation that was obtained based on the *in vivo* digestibility data and the pH-drop of all protein sources. The obtained equation is exponential and has an r^2 of 76.76% of the variability of digestibility *in vivo* is explained by the adjusted model. In Figure 1B, all protein sources were used except casein, and thus an equation with an r^2 of 76.24% was obtained. Figure 1C shows only the proteins of vegetal origin, which permitted us to obtain an exponential digestibility equation that takes pH into account with an r^2 of 88.48%. The equation shown in Figure 1C, offered the best explanation of digestibility given the drop in pH. However, the equation shown in Figure 1D, in which only proteins of animal origin were used, yielded the worst adjustment, with an

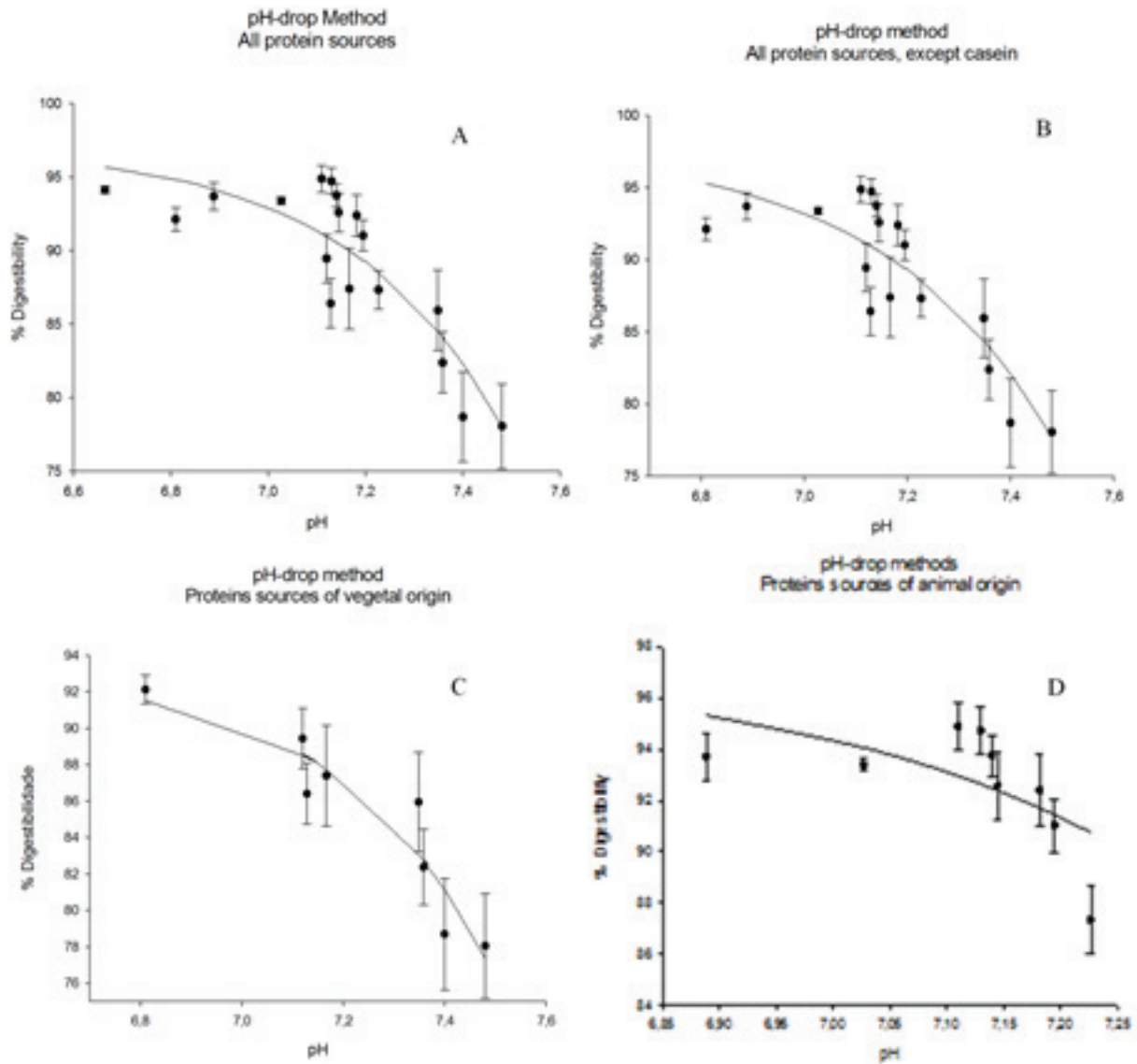


FIGURE 1. Curves of *in vivo* digestibility estimated by *in vitro* digestibility using the pH-drop method:

% $D^* = 97.1887 (1 - e^{-3.1245 \times (8-pH)})$, $r^2 = 0.7676$ (A); of 17 studied proteins (except casein):

% $D^* = 97.9045 (1 - e^{-3.0365 \times (8-pH)})$, $r^2 = 0.7624$ (B); of protein of vegetal origin:

% $D^* = 93.1359 (1 - e^{-3.4138 \times (8-pH)})$, $r^2 = 0.8848$ (C); of protein of animal origin:

% $D^{**} = 97.3704 (1 - e^{-3.4757 \times (8-pH)})$, $r^2 = 0.7676$ (D).

Each point represents the average of 6 repetitions.

*Significant to 1%.

**Significant to 10%.

r^2 of 41.61%. This equation offered the least compelling correlation of *in vitro* digestibility behavior with *in vivo* digestibility. The *in vitro* digestibility's obtained from the equations shown in Figure 1, compared with their respective *in vivo* digestibility's, are shown in Table 2.

pH-static method

To determine the *in vitro* digestibility using the pH-static method, the volume of a solution of 0.1 mol/L NaOH needed to maintain a pH of 8.0 after a solution of proteins and a solution of enzymes were added was measured. The equations prepared based on the amounts of NaOH expended to maintain a pH of 8.0 after the addition of an enzyme solution is shown in Figure 2. Figure 2A shows the equation obtained from the *in vivo* digestibility data and the amount (in mL) of NaOH that was expended to maintain a pH of 8.0 for all protein sources. The obtained equation is exponential and has an r^2 of 70.33%. Figure 2B shows

the equation for all protein sources, except casein, for which we obtained an equation with an r^2 of 70.71%. The curve with the highest r^2 value for the pH-static method was obtained for proteins of vegetal origin ($r^2 = 84.84\%$, Figure 2C). Figure 2D shows the equation for samples of animal origin, for which the obtained digestibility amounts and the volume of NaOH did not permit an exponential adjustment to the other three curves (Figures 2A, 2B, and 2C) because the *in vivo* digestibility were very similar, with the exception of the powdered milk sample. The equation makes a square polynomial adjustment and has a very low r^2 value (8.45%), and both parameters and regressions are not significant ($p > 0.10$). However, this only occurs with the data from samples of animal origin. The curve was not made to correlate the digestibility with the volume of NaOH expended to maintain a pH of 8.0. For samples of animal origin, the equations obtained from Figure 2A or Figure 2B should be used. Using the pH-drop method, we

TABLE 2. *In vitro* and *in vivo* digestibility's calculated for each one of the equations at 10 min (pH-drop method).

Protein sources	<i>In vivo</i> digestibility	<i>In vitro</i> digestibility			
		All samples ^{1A}	Except casein ^{1B}	Vegetal samples ^{1C}	Animal samples ^{1D}
Commercial casein	94.27	95.69	-	-	-
Rice	92.12	94.83	95.27	91.53	-
Oats	87.39	90.00	90.11	87.72	-
Bovine meat	92.38	89.65	89.74	-	91.70
Chicken meat	94.73	90.78	90.93	-	92.64
Fish meat	94.87	91.16	91.34	-	92.95
Pork meat	93.74	90.57	90.71	-	92.47
Frog meat without bones	93.38	94.06	92.81	-	92.54
Mechanically separated frog meat	92.57	90.47	90.61	-	92.57
Frog meat with bones	91.01	89.33	89.41	-	91.44
Pearl Beans	78.70	82.28	82.07	81.13	-
Powdered milk	87.32	88.51	88.55	-	90.75
Whey protein	93.69	94.17	94.56	-	95.33
Textured vegetable protein	86.41	90.81	90.97	88.39	-
Maize (ground)	82.38	84.10	84.37	82.72	-
Quinoa	85.95	84.50	84.37	83.07	-
Soya beans	78.05	78.05	77.72	77.35	-
Wheat (flour)	89.44	90.97	91.14	88.51	-

^{1A} %D* = 97.1887 (1 - e^{-3.1245 x (8-pH)}) $r^2 = 0.7676$

^{1B} %D* = 97.9045 (1 - e^{-3.0365 x (8-pH)}) $r^2 = 0.7624$

^{1C} %D* = 93.1359 (1 - e^{-3.4138 x (8-pH)}) $r^2 = 0.8848$

^{1D} %D** = 97.3704 (1 - e^{-3.4757 x (8-pH)}) $r^2 = 0.7676$

*Significant to 1%

**Significant to 10%

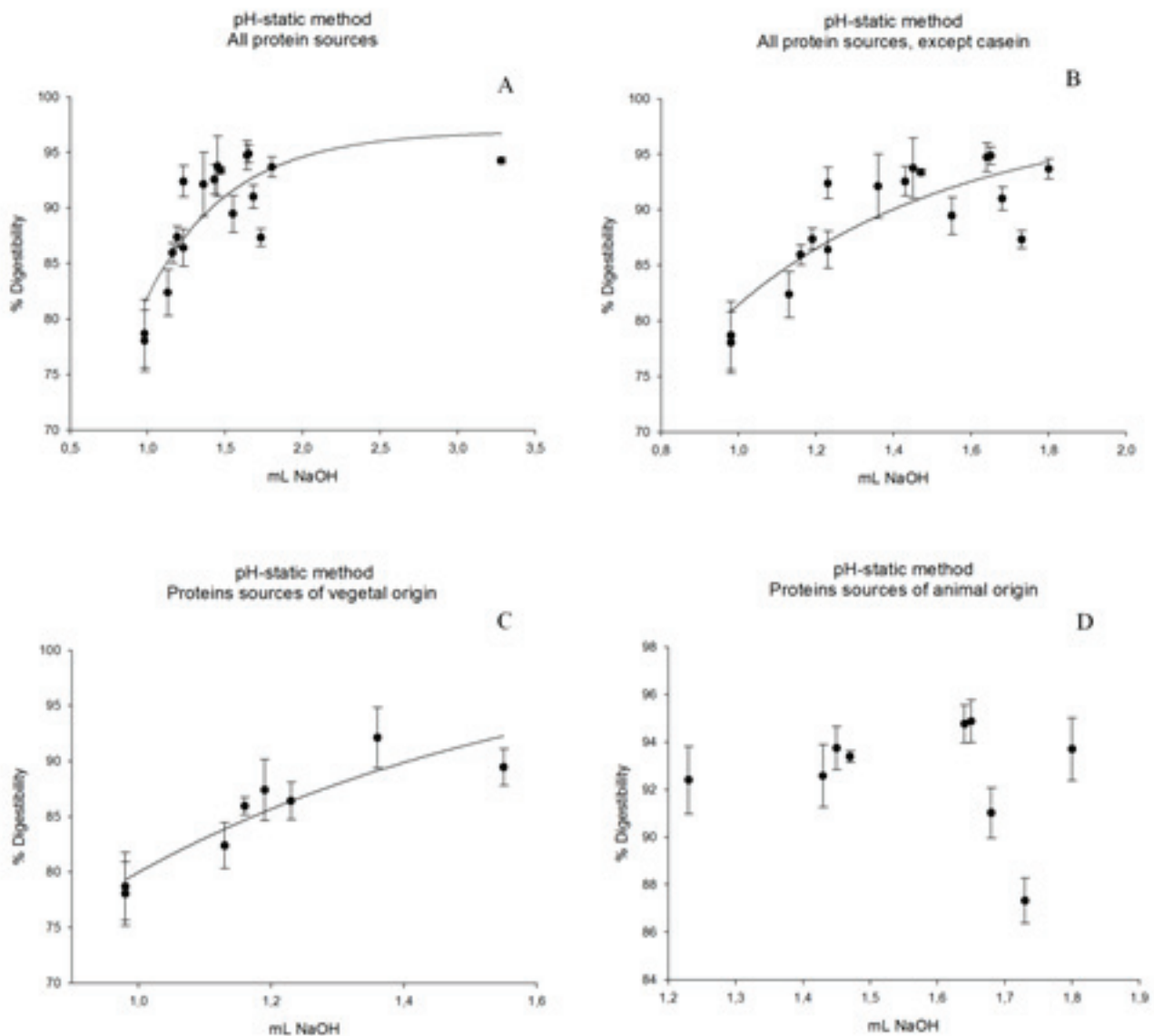


FIGURE 2. The curve of *in vitro* digestibility obtained using the volume of NaOH expended to maintain a pH of 8.0 (pH-static method) and the *in vivo* digestibility of the 18 studied proteins:

$\%D^* = 96.8917 (1 - e^{-1.8763 \times \text{mL de NaOH}})$, $r^2 = 0.7033$ (A); of 17 studied proteins (except casein):

$\%D^* = 98.5048 (1 - e^{-1.7560 \times \text{mL de NaOH}})$, $r^2 = 0.7071$ (B); of protein of vegetal origin:

$\%D^* = 96.8917 (1 - e^{-1.8763 \times \text{mL de NaOH}})$, $r^2 = 0.7033$ (C); of protein of animal origin (D).

Each point represents the average of 6 repetitions.

*Significant to 1%

observed a linear behavior for samples of animal origin, with an average digestibility of 93.24% when powdered milk was omitted.

The results for *in vitro* digestibility as calculated by each one of the equations obtained by the pH-static method are shown in Table 3. Table 3 shows the *in vitro* digestibility obtained using equation 1A for

samples of animal origin and equation 1C for samples of vegetal origin. Using the amounts obtained for *in vivo* digestibility and *in vitro* digestibility calculated using equations 1A and 1C (Table 4), we obtained a linear relationship with an r^2 of 86.12% (Figure 3). Thus, from the equation obtained in Figure 3, we can predict *in vivo* digestibility.

TABLE 3. *In vitro* and *in vivo* digestibility's calculated for each one of the equations (pH-static method).

Protein sources	<i>In vivo</i> digestibility	<i>In vitro</i> digestibility		
		All samples ^{2A}	Except casein ^{2B}	Vegetal samples ^{2C}
Commercial casein	94.27	96.69	-	-
Rice	92.12	89.34	89.46	89.15
Oats	87.39	86.50	86.32	85.45
Bovine meat	92.38	87.25	87.14	-
Chicken meat	94.73	92.43	92.97	-
Fish meat	94.87	92.51	93.07	-
Pork meat	93.74	90.51	90.78	-
Frog meat without bones	91.01	92.75	93.35	-
Mechanically separated frog meat	92.57	90.27	90.51	-
Frog meat with bones	93.38	90.75	91.05	-
Pearl Beans	78.70	81.48	80.88	79.31
Powdered milk	87.32	93.12	93.78	-
Whey protein	93.69	93.58	94.33	-
Textured vegetable protein	86.41	87.25	87.14	86.41
Maize (ground)	82.38	85.26	84.96	83.90
Quinoa	85.95	85.90	85.66	84.69
Soya beans	78.05	81.48	80.88	79.31
Wheat (flour)	89.44	91.60	92.03	92.27

^{2A} %D* = 96.8917 (1 - e^{-1.8763 x mL de NaOH}) r² = 0.7033^{2B} %D* = 98.5048 (1 - e^{-1.7560 x mL de NaOH}) r² = 0.7071^{2C} %D* = 101.3461 (1 - e^{-1.5569 x mL de NaOH}) r² = 0.8484

*Significant to 1%

TABLE 4. *In vivo* and *in vitro* digestibility's calculated for each one of the samples using the pH-drop method.

Protein sources	<i>In vivo</i> digestibility (%)	<i>In vitro</i> digestibility (%)	Predicted <i>in vivo</i> digestibility ³ (%)
Commercial casein	94.27	95.691	93.85
Rice	92.12	91.533	90.40
Oats	87.39	87.723	87.24
Bovine meat	92.38	89.651	88.84
Chicken meat	94.73	90.781	89.78
Fish meat	94.87	91.161	90.10
Pork meat	93.74	90.571	89.61
Frog meat without bones	93.38	94.061	92.50
Mechanically separated frog meat	92.57	90.471	89.52
Frog meat with bones	91.01	89.331	88.58
Pearl beans	78.70	81.133	81.77
Powdered milk	87.32	88.511	87.90
Whey protein	93.69	94.171	92.59
Textured vegetable protein	86.41	88.393	87.80
Maize (ground)	82.38	82.723	83.09
Quinoa	85.95	83.073	83.38
Soya beans	78.05	77.353	78.64
Wheat (flour)	89.44	88.513	87.90

^{1A} %D = 97.1887 (1 - e^{-3.1245 x (8-pH)}) r² = 0.7676^{1B} %D = 93.1359 (1 - e^{-3.4138 x (8-pH)}) r² = 0.8848² %D* *in vivo* predict = 14.46 + 0,8297 x (%D *in vitro*) r² = 0.8612

*Significant to 1%

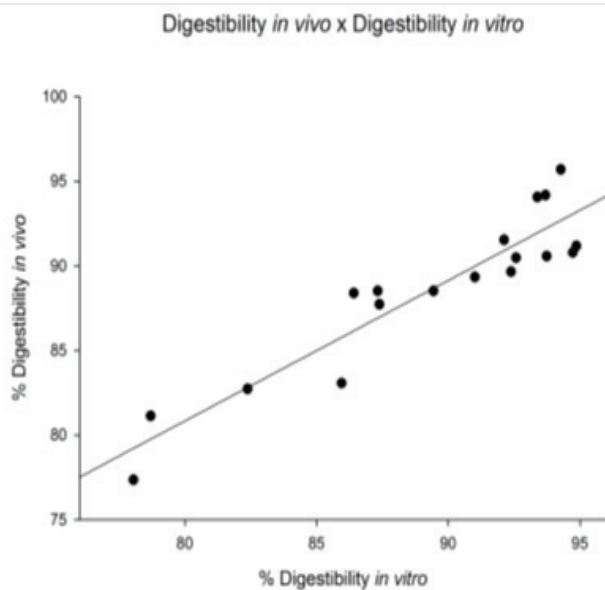


FIGURE 3. *In vivo* digestibility and *in vitro* digestibility, using equations better adjusted to determine *in vitro* digestibility, through the pH-drop method:
 $\%D_{in\ vivo\ predict} = 14.46 + 0,8297 \times (\%D_{in\ vitro})$
 $r^2 = 0.8612$. *Significant to 1%

DISCUSSION

The pH-drop method

The equations obtained in Figures 1A and 1B have similar r^2 values. Thus, the presence of casein does not influence curve adjustments. Pires et al.(6) adjusted a square polynomial model to describe digestibility as a function of the pH-drop amounts and observed that in the casein sample, the r^2 level decreased because the reference point to the casein was very distant from the others, which compromised the equation. This phenomenon was not observed in the exponential model because a large increase in the pH-drop creates a small increase in the digestibility at pH levels down to 6.8. An exponential model was chosen because it better adapts to the studied biological model. As pH-drops increase, the digestibility also increases, but after a certain threshold, the increase in the pH-drop levels are related to increases in the digestibility amounts. In this case, the pH-drop level observed for the casein sample does not change as the curve adjusts. Through exponential adjustments, we observed that for an infinite pH-drop amount, a digestibility of 97.19% can be obtained from the equation found when using all samples (Figure 1A), 97.90% from all the samples except casein (Figure 1B), 93.14% from only the

samples of vegetal origin (Figure 1C), and 97.37% from only the samples of animal origin (Figure 1D). The equation obtained by Figure 1D presented worst adjustment because the *in vitro* digestibility of the proteins of animal origin yielded more variable results than those obtained for *in vivo* digestibility.

The *in vitro* digestibility's obtained from the equations above are similar to the *in vivo* digestibility's. For samples of vegetal origin, the *in vitro* digestibility obtained by equation 1C is similar to the *in vivo* digestibility. Although equation 1D shows a low r^2 value (41.61%), it yields amounts closer to the *in vitro* digestibility for samples of animal origin, except powdered milk, when compared to the *in vivo* digestibility. The diet containing powdered milk was the food of animal origin that presented the lowest digestibility. The digestibility of the diet with powdered milk was lower than that of casein, but casein contains the highest proportion of milk protein ingredients, which represent approximately 80% of its total proteins (14). The presence of lactose in the powdered milk likely caused light diarrhea in the experimental animals, increasing intestinal flow, and, consequently, nitrogen excretion. Thus, the *in vivo* digestibility of the powdered milk diet was reduced. When we omitted the data for the powdered milk-containing diet, we observed a linear behavior similar to that observed for the samples of animal origin, with an average *in vivo* digestibility of 93.24%, independent of the origin of the animal samples and the obtained pH-drop level.

pH-static method

All three equations obtained by the pH-static method shown in Table 3 permit the calculation of *in vitro* digestibility amounts that are very similar to those determined *in vivo*. The best correlation was obtained using the samples of proteins of vegetal origin. This finding contradicts the data obtained by Pires et al. (6), who reported an r^2 of 43.29% using the pH-static method and a square polynomial curve with proteins of vegetal origin only. However, Pires et al. (6) found a major correlation for all proteins (84.98%) and for all proteins except casein (83.78%) in squared polynomial arrangements. In our work, the exponential model was chosen because it is more adaptable to the biological model, presents significant parameters and regressions ($p < 0.01$), and presents an r^2 value that is greater than other r^2 values for square polynomial adjustments.

By using the pH-static method to determine *in vitro* digestibility, Cruz et al.(12) obtained larger r^2 values compared to tests of the *in vivo* digestibility of different species of beans that were newly gathered and stored. This method permitted them to obtain r^2 levels that varied from 75% to 83%.

For all observed curves, the pH-drop method yielded larger r^2 values. However, to determine the *in vitro* digestibility of proteins of vegetal origin, we recommend the use of the pH-drop method, as shown in Figure 1C. To determine the *in vitro* digestibility of proteins of animal origin, we recommend the pH-drop method using the equation shown in Figure 1A, which was obtained from the digestibilities of all samples.

The digestibility determined using the equation in Figure 3 differs by 0.44% to 5.22% from the true digestibility obtained *in vivo*. Thus, the pH-drop method is a good method to determine the *in vitro* digestibility of foods and may be used to predict protein digestibility. *In vitro* techniques are less expensive, require less manpower and physical space, and use a smaller quantity of protein.

The values obtained for the digestibility of the samples ranging from 78.05% (soybean) and 94.87% (fish meat) (Table 4). The digestibility of animal protein and rice is presented high in relation to other vegetable proteins, for not having anti-nutritional factors.

Pires et al. (6), Mendes et al. (16) and Usydus et al. (17) observed true digestibility values of 90.13% and 98.7% for animal protein, results that show the high digestibility of animal proteins.

The digestibility of rice protein was 93.56% (Table 4). Boisen et al. (18) studied the digestibility of different varieties of rice, found digestibility values ranging from 92.5% to 98.8%. The proteins present in rice are easily digested and absorbed, but will not necessarily be well used for growth and maintenance, lack of essential amino acids. Mendes et al. (16), studying the quality proteins, found PER values NPR 64.1% and 79.9% for rice, in relation to casein.

Of all proteins analyzed those that had lower true digestibility were soybeans (78.05%) and beans (78.70%). Vegetable proteins have over antinutritional factors that contribute to decreased digestibility as phytates, tannins, protease inhibitors (5).

The digestibility of a protein source may vary depending on its origin, variety, thermal treatment, or

other types of processing. Thus, *in vitro* techniques could be used with low cost to predict the digestibility of new varieties of food or foods that have been processed differently (6), more rapidly and in a less resource-intensive manner.

Both methods that were analyzed in this work yielded *in vitro* digestibilities that were strongly correlated with *in vivo* digestibility. Methodological changes such as the use of only trypsin enzymes and pancreatine reduce expense do not affect the correlation with *in vivo* digestibility. The equations developed using the pH-drop method allowed us to obtain *in vitro* digestibility amounts that were more closely correlated with *in vivo* digestibility than those obtained using equations obtained using the pH-static method. This finding indicates the possibility that food industries could utilize this method of testing the *in vitro* digestibility of alimentary products to predict protein digestibility.

CONCLUSION

The method of *in vitro* digestibility by measuring the pH fall after hydrolysis of proteins showed better correlation with *in vivo* method, should preferably be used to predict the true digestibility.

ACKNOWLEDGMENT

The financial support from CNPq and FAPEMIG.

REFERENCES

1. Millward DJ, Layman DJ., Tomé D, Schaafsma G. Protein quality assessment: impact of expanding understanding of protein and amino acid needs for optimal health. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2008; 87(5):1576-1581.
2. Schaafsma, G. The protein digestibility-corrected amino acid score. *J. Nutr.*, 2000; 130(7):1865S-1867S.
3. Hernández M, Veja A, Sotelo A. Determinación de la digestibilidad proteínica in vitro e in vivo en cereais y leguminosas, crudos e cocidos. *Arch. Latinoamer. Nutr.*, 1984; 34(1): 513-522.
4. Peluzio MCG, Batista EC. Proteínas. In: Costa NMB, Peluzio MCG. *Nutrição Básica e Metabolismo*. 1. ed. Viçosa: 2008; p.120-154.
5. Vargas E, Brassani R, Navarrete D. Digestibilidad de la proteína y energía de dietas elaboradas a base de arroz y frijoles en humanos adultos. *Arch. Latinoamer. Nutr.*, 1984; 34(1): 109-129.
6. Pires CV, Oliveira MGA, Rosa JC, Cruz GADR, Mendes FQ, Costa NMB. Digestibilidade in vitro e in vivo de proteínas de alimentos: estudo comparativo. *Alim. Nutr.*, 2006; 17(1): 13-23.

7. Association of Official Analytical Chemists – AOAC. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 19. ed. Arlington: 2012; 1141p.
8. Instituto Adolfo Lutz. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. 4. ed. 1. ed. digital. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008; 1020 p.
9. Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GC. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc Writing Committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J. Nutr.*, 1993; 123(11): 1939-1951.
10. Hau J, Schapiro, SJ (Eds.) Handbook of laboratory animal science: essential principles and practices. v. 1. 3. ed. Boca Raton: CRC Press, 2010; 740 p.
11. Hsu HW, Vavak DL, Saterlee LD, Miller GA. Multienzyme technique for estimating protein digestibility. *J. Food Sci.*, 1977; 42(5): 1269-1273.
12. Cruz GADR, Oliveira MGA, Costa NM, Pires CV, Cruz R, Moreira MA. Comparação entre a digestibilidade proteina in vitro e in vivo de diferentes cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) armazenados por 30 dias. *Alim. Nutr.*, 2005; 16(3): 265-271.
13. Sant'Ana RCO, Mendes FQ, Pires CV, Oliveira MGO. Influence of lipid extraction from different protein sources on in vitro digestibility. *Ciênc. Agrotec.*, 2011; 35(4): 758-764.
14. Charland MB. SigmaPlot for scientists. Version 8.0. Dubuque: Wm. C. Brown Communications, Inc., 1995.
15. Machado RMG, Freire VH, Silva PC, Figuerêdo DV, Ferreira PE. Controle ambiental em pequenas e médias industrias de laticínios. Belo Horizonte: Segrac, 2002; 224 p.
16. Mendes FQ, Oliveira MGA, Costa NMB, Pires CV, Hoffmam ZB. Qualidade protéica de diversos alimentos, incluindo diferentes variedades de soja. *Alim. Nutr.*, 2009; 20 (1): 77-86.
17. Usydus Z, Szlinder-Richert J, Adamczyk M. Protein quality and amino acids profiles of fish products available in Poland. *FoodChem.*, 2009; 112: 139-145.
18. Boisen S, Duldulao JBA, Mendoza EMT, Juliano BO. Comparative protein digestibility in growing rats of cooked rice and protein properties of indica and japonica milled rices. *J. Cereal Sci.*, 2001; 33: 183-191.

Recibido: 01-10-2015

Aceptado: 08-12-2015

Fuentes naturales de fitoesteroles y factores de producción que lo modifican

Paola Silva, Ana C. Pinheiro, Lorena Rodríguez, Victoria Figueroa, Cecilia Baginsky.

Departamento de Producción Agrícola, Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile, Santiago, Chile. Departamento de Nutrición, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, Chile. Departamento de Nutrición y Alimentos, División de Políticas y Saludables, Ministerio de Salud.

RESUMEN: Actualmente los fitoesteroles son adicionados a los alimentos industrializados, lo que aumenta su costo y por lo tanto limita su consumo. Este manuscrito tiene como objetivo identificar alimentos que son una fuente natural de fitoesteroles, así como también analizar cómo el ambiente y el manejo productivo modifican su contenido, relacionando estos aspectos con la salud. Los fitoesteroles son compuestos presentes en las plantas con propiedades hipocolesterolemicas, que pueden contribuir a prevenir las enfermedades cardiovasculares. La ingesta diaria estimada de fitoesteroles varía entre 160 y 500 mg/día, sin embargo su acción beneficiosa se logra con consumos de 1500 mg a 2400 mg diarios. Las semillas de oleaginosas y de cereales son las mayores fuentes naturales de fitoesteroles. El amaranto es considerado un pseudocereal y entre los cereales tiene la mayor concentración de fitoesteroles con 178 mg/100 g, valor 5 veces superior al de la harina de trigo. El ambiente modifica el contenido de fitoesteroles de los alimentos, la sequía y temperaturas altas duplican su contenido en las semillas; la fertilización nitrogenada y la fecha de siembra pueden provocar cambios, pero se requieren más estudios al respecto. La selección de genotipos con mayor contenido de fitoesteroles y el estudio de la interacción genotipo ambiente, permitirá la identificación de aquellos genotipos con adaptación local para este carácter. El manejo productivo podrá aumentar la oferta de alimentos naturales ricos en fitoesteroles, contribuyendo a una mayor oferta de alimentos protectores de la salud.

Palabras clave: Fitoesteroles, salud, amaranto, interacción GxA, ambiente.

SUMMARY. Natural sources of phytosterols and production factors that modify them. Currently phytosterols are added to processed foods, which increase their cost and therefore limits its use. This manuscript aims to identify foods that are a natural source of phytosterols, as well as analyze how the environment and production management modify its content, linking these aspects with health. Phytosterols are compounds found in plants with hypocholesterolemic properties, which may help prevent cardiovascular diseases. The estimated daily intake of phytosterols varies between 160 and 500 mg/day, but its beneficial effect is achieved with 1,500 to 2,400 mg daily consumption. Oil and cereal seeds are the largest natural sources of phytosterols. Amaranth is considered a pseudocereal and among the cereals has the highest concentration of phytosterols with 178 mg/100 g, value 5 times higher than wheat flour. Environment modifies phytosterol content in food, drought and high temperatures can double their content in seeds; nitrogen fertilization and planting date can cause changes, but more studies are needed. The selection of genotypes with higher phytosterol content and studying the genotype x environment interaction, allow the identification of those genotypes with local adaptation for this character. The production management will increase the supply of natural foods rich in phytosterols, contributing to a greater supply of health protective foods.

Key words: Phytosterols, health, amaranth, interaction GxE, environmental.

INTRODUCCION

El problema de salud pública más importante actualmente en el mundo y en América Latina, incluyendo Chile, son las enfermedades no transmisibles vinculadas a la dieta, como las cardiovasculares. Enfrentar este problema requiere un cambio en los entornos alimentarios de tal modo que se aumente la oferta de alimentos saludables y se

promueva su consumo. Existen compuestos bioactivos de reconocido valor nutricional y preventivo como los fitoesteroles, que pueden contribuir a reducir la absorción de colesterol y por lo tanto disminuyen un importante factor de riesgo cardiovascular. Actualmente, la tendencia ha sido aislar estos compuestos bioactivos y adicionarlos a los alimentos industrializados, lo que aumenta su costo y por lo tanto limita su consumo.

Una de las estrategias para impulsar el mayor consumo de compuestos bioactivos protectores de la salud como es el caso de los fitoesteroles podría ser a través del aumento de sus concentraciones en alimentos que naturalmente los contienen utilizando para tal el manejo agronómico. Para ello se debe conocer las especies de mayor aporte, como también identificar los factores de producción que lo potencian como el ambiente y el manejo productivo.

Este manuscrito tiene como objetivo identificar alimentos que son fuente natural de fitoesteroles, analizar cómo el ambiente y el manejo productivo modifican su contenido, relacionando estos aspectos con la salud.

Función y estructura de los fitoesteroles

Los fitoesteroles y sus productos de reducción química los fitoestanoles, son esteroides de origen vegetal que tienen amplia distribución en la naturaleza. Corresponden a metabolitos secundarios de las plantas, que son sintetizados y utilizados por las células, y aunque no son esenciales tienen un papel fundamental en la sobrevivencia de las plantas. Son compuestos claves en la formación de microdominios (agregados de lípidos que compartimentan procesos celulares) en la membrana plasmática (1). Además, desempeñan un papel esencial en la regulación de la fluidez y

permeabilidad de la membrana (2). Son precursores hormonales, involucrados en el proceso de embriogénesis de la planta, tienen un papel fundamental en el crecimiento y en los procesos de desarrollo a través de la división celular, como también en la morfogénesis (3). Participan en la defensa de la planta frente a diferentes estreses bióticos (4-5) o abióticos (6), actuando como señales moleculares dentro de la planta o entre la planta y su entorno (condiciones ambientales o presencia de microorganismos).

Los fitoesteroles pertenecen al grupo de los compuestos isoprenoides (7), tienen un núcleo de 17 carbonos dispuestos en 4 anillos con un grupo 3- β hidroxilo, a menudo con un doble enlace en la posición 5,6 y

una cadena carbonada con 9 a 10 carbonos (8). Su estructura química es parecida a la del colesterol; sin embargo, difieren estructuralmente. El colesterol posee 27 átomos de carbono (C27) y los fitoesteroles 28 o 29, debido a la presencia de sustituyentes de tipo metilo (C1) o etilo (C2) en la cadena lateral de la molécula (Figura 1).

Según Brufau et al, 2008 (2), se han identificado 250 estructuras diferentes de fitoesteroles, siendo los más comunes el β -sitoesterol, el campesterol y el stigmasterol (9,10) (Figura 1).

Los fitoesteroles se producen a través de la biosíntesis de los isoprenoides, que ocurre exclusivamente en el citoplasma y que consta de más de 25 reacciones catalizadas por diferentes enzimas (11). Se generan a partir de moléculas de acetil-CoA y por la actividad enzimática de la enzima acetil-CoA carboxilasa (ACC), convirtiendo la Acetil-CoA en 3-hidroxi-3-metilglutaril CoA, el cual a su vez se reduce a melovato. El melovato mediante procesos sucesivos de fosforilaciones y una descarboxilación es transformado en isoprenoide, el que finalmente da origen a los fitoesteroles (12).

Alimentación y salud: fitoesteroles

Actualmente hay una gran preocupación por las enfermedades crónicas no transmisibles como

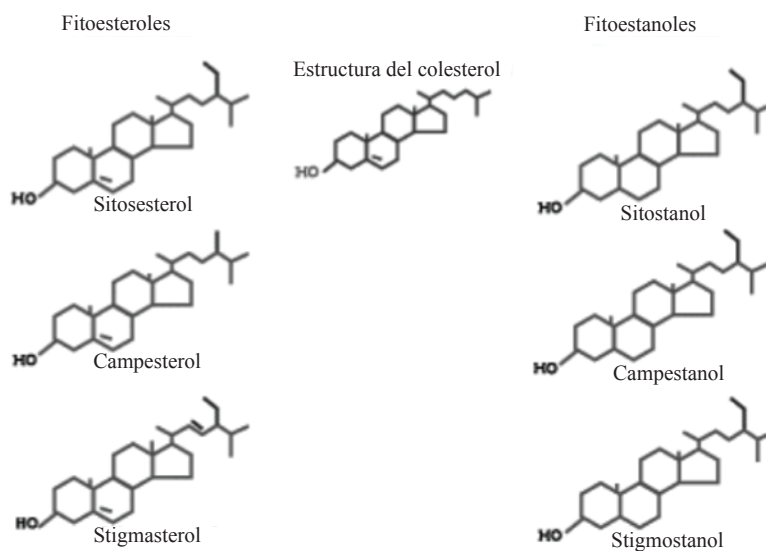


FIGURA 1. Estructura de los fitoesteroles, fitoestanoles y del colesterol (10).

las cardiovasculares, las dislipidemias, la diabetes, la hipertensión y el cáncer. Ello debido a su alta prevalencia, constituyéndose en la principal causa de mortalidad, morbilidad y discapacidad precoz en muchos países miembros de la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OCDE) (13). Las enfermedades crónicas no transmisibles están asociadas a entornos y estilos de vida poco saludables, mala alimentación, sedentarismo y tabaquismo, entre otros. La Encuesta Nacional de Salud (ENS 2009-2010) muestra que en Chile más del 60% de la población sufre mal nutrición por exceso (sobrepeso u obesidad), más de un 30% padece hipertensión arterial, casi un 40% dislipidemias y cerca de un 10% tiene diabetes (14). Además, la misma encuesta indica que el 89% de la población es sedentaria, el consumo de sal (9,8 g/día) duplica las recomendaciones (5,0 g/día) y solamente el 15% consume las 5 porciones diarias de frutas y verduras recomendadas por el Ministerio de Salud (15).

En las últimas décadas se ha dado un creciente cambio en la oferta y la demanda de alimentos y en los patrones de alimentación. Ha aumentado el consumo de alimentos ultraprocesados (16,17) que se relacionan a una mayor carga de enfermedades crónicas no transmisibles, y ha disminuido el consumo de preparaciones culinarias tradicionales (18). En Chile, las Guías Alimentarias para la Población (19) recogen gran parte de las recomendaciones internacionales respecto del consumo de alimentos saludables. Sin embargo, tanto en la población como en la industria chilena crece también el interés por alimentos más saludables, en especial aquellos que contienen nutrientes bioactivos que puedan contribuir a prevenir enfermedades cardiovasculares y cánceres (20), tales como ácidos grasos poliinsaturados omega 3, fibra y fitoesteroles.

Los fitoesteroles no son sintetizadas por los seres humanos, se absorben mal y se excretan más rápido desde el hígado que el colesterol, lo que explica su bajo contenido en el tejido humano. Se estima que la ingesta diaria de fitoesteroles se encuentra en un rango entre 160 mg/día y 500 mg/día (21), lo que equivale a menos de la mitad de las recomendaciones para obtener efectos beneficiosos (22).

Entre los principales beneficios asociados al consumo de fitoesteroles está la regulación que ejercen sobre el colesterol total, a través de su solubilización y de la competencia por espacio en las micelas (23).

Una alimentación rica en fitoesteroles puede llegar a producir una disminución de hasta un 15% del colesterol plasmático y de un 20% del colesterol LDL. Para ejercer su acción los fitoesteroles deben ser consumidos en cantidades entre 1500 mg – 2400 mg diarios (24).

Fitoesteroles en alimentos

Estos compuestos están en forma natural en plantas, encontrándose las mayores concentraciones en semillas, tallos, hojas y frutos (10). A nivel industrial los fitoesteroles han sido utilizados para enriquecer ciertos alimentos como el pan, los cereales, las pastas, productos lácteos (leche, yogurt), jugos de fruta y margarinas (25). Sin embargo su producción y consumo son muy limitados dado su alto costo.

Entre las especies vegetales existe una gran variabilidad en el contenido de fitoesteroles (5). En frutas y verduras su contenido es bajo, encontrándose valores de 2 mg/100g en sandías hasta 24 mg/100g en naranjas, mientras que en las verduras los valores fluctúan entre 3 mg/100g en berenjenas hasta 54 mg/100g en arvejas (10).

Las semillas de oleaginosas y de cereales son las mayores fuentes naturales de fitoesteroles. En este sentido, semillas de oleaginosas como canola tienen 399 mg/100g (12), soya 353 mg/100g (26), girasol 225 mg/100g (27) y maní 127 mg/100g (28).

En semillas de cereales, señalan valores para centeno, trigo, cebada y avena de 110 mg, 76 mg, 83 mg y 52 mg/100g, respectivamente (29). Otro trabajo en centeno, cebada y maíz han demostrado que los valores más altos se encuentran en centeno con 76 mg/100g, y los más bajos en maíz con 44 mg/100g (Tabla 1) (30). En arroz se han encontrado valores cercanos a 80 mg/100g (31), y en sorgo se señalan valores de 48 mg/100g (32).

Los pseudocereales son especies ricas en carbohidratos y en la dieta de seres humanos reemplazan a los cereales, sin embargo no pertenecen a la familia Graminaceae (donde se encuentran los cereales). En este grupo destacan especies como la quinoa (*Chenopodium quinoa*), el amaranto (*Amaranthus spp.*) y el alforfón (*Fagopyrum esculentum*). En la quinoa el contenido de fitoesteroles es de 83 mg/100g y 107 mg/100g en alforfón, valores más altos que los encontrados en cereales (30). En el caso de amaranto, se señalan valores de 178 mg/100g,

destacándose como el pseudocereal con el mayor contenido de fitoesteroles (30) incluso superior al de los cereales. En el caso del trigo, el mayor consumo se hace como harina refinada, la cual corresponde sólo a la sección del endosperma de la semilla, que contiene 36 mg de fitoesteroles/100g, valor muy inferior al encontrado en la harina de trigo integral (Tabla 1).

Se estima que hay 61 especies de amaranto (*Amaranthus spp.*) en el mundo, con una gran diversidad genética (33). El contenido de lípidos en la semilla de amaranto varía entre 5,7 y 10,9%, con un promedio de 8,8%, variabilidad que también se refleja en su contenido de fitoesteroles (34). Los primeros estudios fueron hechos en cinco especies de amaranto (*A. tricolor*, *A. retroflexus*, *A. hybridus*, *A. dubius*, *A. cruentus*), encontrándose los valores más altos de contenido de fitoesteroles dentro de la especie considerada como malezas (*A. tricolor*) con 36 mg/100g y dentro de las especies cultivables, en *A. cruentus* con 34 mg/100g (Tabla 2) (35). Estudios recientes en semillas de *A. cruentus* señalan valores de 178 mg/100g, muy superiores a lo informado (35), atribuyendo esta gran diferencia a los distintos métodos de extracción para su cuantificación (36).

Los principales fitoesteroles encontrados en el aceite y semillas de amaranto son, en orden de importancia, el β -sitoesterol, el campesterol y el stigmasterol; sus cantidades varían entre especies y variedades (37,38), observándose que más del 50% del total de fitoesteroles corresponde a β -sitoesterol (36, 37, 38).

El contenido de fitoesteroles tiene una gran variabilidad genética dentro de una misma especie (39). Este carácter tiene una alta heredabilidad

(0,84-0,91) y podría ser utilizada en programas de fitomejoramiento (12). En semillas de oleaginosas como el girasol (*Helianthus annuus L.*) se han llevado estudios para determinar la variabilidad intraespecífica (dentro de la especie) en su contenido de fitoesteroles, observándose que en 464 ecotipos provenientes de 47 genotipos, el contenido fluctuó entre 143 hasta 471 mg/100g de semilla. También varió el tipo de fitoesterol presente; así, el sitoesterol fluctuó entre 45,1 - 65,0%, el stigmasterol entre 5,2 - 14,2% y el campesterol entre 3,8 - 16,7% del contenido total de fitoesteroles (35). Resultados similares fueron encontrados en 9 líneas de girasol (40), mientras que en 27 variedades modernas de canola (*Brassica napus L.*) se cuantificaron fluctuaciones entre 357 y 480 mg/100g de semilla. Se encontró también variabilidad genética en la cantidad de sitoesterol, campesterol, brassicasterol y avenasterol, con valores entre 180 - 246 mg/100g, 116 - 174 mg/100g, 27 - 50 mg/100g y 7 - 13 mg/100g, respectivamente (12).

Otros estudios en leguminosas proteaginosas (especies que producen en sus semillas altos contenidos de proteínas y grasas) como el maní, han demostrado también la existencia de esta variabilidad; en tres variedades comerciales de maní los valores fluctuaron entre 117 y 138 mg/100g (28). En otra especie proteaginosas como la soya, la evaluación de 11 líneas determinó valores que fluctuaron entre 235 y 405 mg/100g (40).

En cereales como el trigo, el contenido de fitoesteroles de 23 variedades comerciales varió entre 49 y 80 mg/100g de semillas (39). Por su parte en siete variedades de avena, se han señalado rangos de variación entre 37 - 46 mg/100g (41); mientras que en

TABLA 1. Contenido de fitoesteroles en alimentos.

	Total (mg/100g)	β -sitoesterol (mg/100g)	Campesterol (mg/100g)	Stigmasterol (mg/100g)	Referencias
Alforfón	107	95	10	2	(32)
Quinoa	83	64	16	3	(32)
Centeno	76	58	17	1	(32)
Cebada	50	38	12	0	(32)
Maíz	44	34	9	1	(32)
Amaranto ¹	178	100	4	3	(35)
Harina integral trigo	71	36	12	0,2	(36)
Harina trigo	36	21	6	0,3	(36)

¹ *Amaranthus cruentus*

TABLA 2. Contenido de fitoesteroles en la semilla y en el aceite de distintas especies de amaranto y en el aceite de amaranto.

	Total (mg/100g)	β -sitosterol (mg/100g)	Campesterol (mg/100g)	Stigmasterol (mg/100g)	Referencias
<i>A. tricolor</i> ¹	36	-	-	3	(39)
<i>A. retroflexus</i> ¹	35	-	-	3	(39)
<i>A. hybridus</i> ¹	22	-	-	2	(39)
<i>A. tricolor</i> ²	30	-	-	3	(39)
<i>A. dubius</i> ²	28	-	-	3	(39)
<i>A. cruentus</i> ²	34	-	-	3	(39)
<i>A. cruentus</i>	178	100	4	3	(35)
Aceite amaranto ³	637	607	9	22	(40)
Aceite amaranto ⁴	715	683	13	18	(41)

¹Amarantos maleza; ² Amarantos cultivables; ³ *A. hypochondriacus* x *A. hybridus*; ⁴ *A. cruentus*; -: no informa

seis variedades de arroz se han señalado valores entre 76 - 95 mg/100g (31).

Efecto del ambiente en el contenido de fitoesteroles

El ambiente es capaz de provocar los mayores cambios en el contenido de fitoesteroles (42, 43), llegando a representar hasta el 90% de la variación total observada para este carácter (44). Factores como el tipo de suelo y características climáticas pueden variar el contenido de fitoesteroles (45, 46, 47), al igual que prácticas agronómicas, estreses abióticos y bióticos (46, 48).

Diversos autores sugieren que los fitoesteroles están implicados en la respuesta de las plantas a estreses por baja y alta temperatura, sequía, alta concentración de sal y ataques de patógenos (49). Este hecho estaría relacionado principalmente a su papel como precursor en la biosíntesis de brasinoesteroides (hormonas vegetales que influyen en diferentes procesos fisiológicos de las plantas como la elongación, el desarrollo vascular y la división celular) (3, 50), y su capacidad de resistir la oxidación dentro de la membrana celular (29). En este sentido, los estudios han indicado que los fitoesteroles y ácidos grasos insaturados pueden estar implicados en los mecanismos de adaptación de las plantas a temperaturas bajas extremas entre -4,5 a -2,5 °C (31).

En estudios llevados a cabo bajo condiciones controladas de aumento de la temperatura en un cultivo de soya, se observó que las semillas duplicaron la concentración de fitoesteroles a altas temperaturas

(Tabla 3), determinándose un aumento de campesterol a expensas de estigmasterol y β -sitosterol (40).

En condiciones de campo, se determinó que el contenido de fitoesteroles en semillas de trigo cultivado en climas más cálidos y secos, presentaron mayor contenido de fitoesteroles en comparación de aquellos que fueron sembrados en un clima más frío y lluvioso (51). Una respuesta similar fue encontrada en variedades de arroz, obteniendo los mayores valores de fitoesteroles cuando fueron cultivadas en una estación seca y con altas temperaturas, en comparación a aquellos cultivados en condiciones más frías y húmedas (52). Resultados semejantes fueron observados en genotipos de sorgo (53) y trigo (42). Sin embargo, otros estudios han determinado un menor contenido de fitoesteroles en años con alta temperatura y baja precipitación durante el llenado de grano (31).

En términos generales existen muy pocos estudios sobre el efecto de prácticas agronómicas como riego, fertilización, densidad y fecha de siembra, sobre el contenido de fitoesteroles y también de otros nutrientes y no nutrientes. Ensayos llevados a cabo en canola, determinaron una disminución en el contenido de fitoesteroles en semillas cuando se aplicó nitrógeno al cultivo, con variaciones entre 370 mg/100g, cuando las plantas no fueron fertilizadas con nitrógeno, a 352 mg/100g con aplicaciones de 130 kg N/ha. Esto podría deberse a que la fertilización nitrogenada provoca un aumento en el rendimiento en semilla de canola y en la cantidad total de aceite, sin embargo, la concentración de aceite disminuye y por lo tanto

TABLA 3. Contenido de fitoesteroles (mg/100g) en la semilla de líneas de soya crecidas a distintos regímenes de temperatura (43).

Línea	Régimen de temperatura (día/noche)		
	20/10°C	27/17 °C	35/25 °C
2396	3350	3800	5910
2835	3600	4660	6830
2990	3450	4230	6690
9255	3450	3880	5720
1990	3120	3640	6320
2918	3360	4650	7960
2621	3460	3580	6360
2660	3270	3900	6460
YB30M	3150	3680	6970
Promedio	3357	4002	6580

es esperable que la concentración de fitoesteroles por gramo de semilla también disminuya (54).

En cereales de invierno, las fechas de siembra tardías someten el cultivo a mayores temperaturas de crecimiento, especialmente durante el llenado de grano, por lo que sería probable observar aumentos del contenido de fitoesteroles con este manejo. Sin embargo, estudios realizados en 20 genotipos de trigo, señalan no haber encontrado una variación relevante en el contenido de fitoesteroles en dos fechas diferentes de siembra (con temperatura media durante el llenado de grano de 18 y 22 °C, respectivamente) (39).

Interacción genotipo x ambiente en el contenido de fitoesteroles

Como se ha mencionado anteriormente, el genotipo o variedad puede cambiar su contenido de fitoesteroles con el ambiente. Sin embargo, también el genotipo que tiene el mayor contenido de fitoesteroles en un ambiente determinado puede no lograrlo en otro ambiente y este cambio de orden de los genotipos en los distintos ambientes se conoce como interacción genotipo ambiente (GxA) (55).

Una evaluación del efecto del genotipo y el ambiente sobre el contenido de fitoesteroles en cuatro variedades de trigo candeal, cultivados en tres años consecutivos bajo manejo tradicional y orgánico (6 ambientes) indica que la interacción GxA fue significativa y explicó una proporción de la variación total similar a la del genotipo (44). De esta manera, en

una localidad con menor precipitación y día más corto, la variedad Daepoong presentó el mayor valor con 3,2 mg/100g, mientras que en la localidad con mayor precipitación y día más largo, esta misma variedad fue una de las que tuvo el menor contenido con 0,2 mg/100g. Una situación similar ha sido señalada en otras variedades de trigo (42), sorgo (53) y centeno (31).

Dada la importancia de la interacción GxA, esta debe ser considerada para las recomendaciones de introducción de genotipos por zonas de cultivo. De esta manera, se podría potenciar el contenido de fitoesteroles, identificando genotipos con adaptación local o estable en la producción de estos compuestos.

Fitoesteroles y salud: regulación de mensajes en los alimentos

En Chile, la Resolución Exenta N°764/09 regula los mensajes saludables que pueden ser asociados a nutrientes u otros factores alimentarios presentes en los alimentos. Esta resolución contempla un listado de 18 declaraciones de propiedades saludables autorizadas, las que deben cumplir con requisitos de contenido, matriz alimentaria y marco del mensaje autorizado (15).

Respecto de fitoesteroles, fitoestanoles y enfermedad cardiovascular, el mensaje autorizado en la Resolución 764 es: “Entre muchos factores que afectan las enfermedades cardiovasculares, las dietas que contengan ésteres de fitoesteroles y/o ésteres de fitoestanoles y que sean bajas en grasas saturadas y colesterol y sin ácidos grasos trans, pueden contribuir a reducir los niveles de colesterol y el riesgo de estas enfermedades”. Para su uso se exige que la matriz alimentaria, objeto de la adición, sea baja en grasa saturada (se eximen de esta condición los aceites, aderezos de ensaladas y margarinas que sean exclusivamente de origen vegetal), baja en colesterol y libre de ácidos grasos trans, y si el contenido de grasa total supera los 13 g por cada 50 g de producto deberá decir en el panel principal “ver contenido de grasas en la información nutricional”. Se exige además que el alimento tenga un mínimo de 0,65 g de ésteres de fitoesteroles y/o un mínimo de 1,7 g de ésteres de fitoestanoles y establece una recomendación de consumo de al menos 1,3 g/día de ésteres de fitoesteroles y/o 3,4 g/día de ésteres de fitoestanoles.

En Estados Unidos (EEUU), la Food and Drug Administration (FDA) revisó en el año 2011 el mensaje saludable relacionado a los fitoesteroles y su relación

con las enfermedades cardiovasculares. La propuesta fue de una ingesta diaria de al menos 2000 mg de fitoesteroles como parte de una dieta baja en grasas saturadas y colesterol para la obtención de los efectos benéficos a la salud, y estableció que los alimentos deben contener al menos 500 mg de fitoesteroles por porción de consumo en este país para tener el mensaje saludable (56).

La agencia European Food Safety Authority (EFSA), de la Unión Europea, indica una recomendación de ingesta de entre 1500 mg a 3000 mg diarios, la que se concentra principalmente en productos industrializados como yogurt, margarinas o aceites (57). En Brasil, la Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria (ANVISA) aprobó un mensaje saludable para alimentos ricos en fitoesteroles en los cuales su contenido debe ser de al menos 800 mg por porción. El marco del mensaje indica que “los fitoesteroles ayudan en la reducción de la absorción del colesterol. Su consumo debe estar asociado a una alimentación equilibrada y hábitos de vida saludables” (58).

CONCLUSIONES

Los fitoesteroles son factores alimentarios que reducen la absorción de colesterol en el intestino por competencia, ya que poseen una estructura química similar al colesterol. Una dieta rica en fitoesteroles puede reducir el colesterol total y el colesterol LDL (dañino para la salud). La ingesta diaria estimada de fitoesteroles varía entre 160 y 500 mg/día, sin embargo su acción beneficiosa se logra con consumos de 1500 mg a 2400 mg diarios. Esto ha implicado que se promueva su consumo y que se regule el uso de un mensaje saludable que comunica su presencia en los alimentos y su efecto positivo sobre los niveles de colesterol y como factor protector de enfermedades cardiovasculares.

Los fitoesteroles se encuentran también en forma natural en los alimentos. Las semillas de oleaginosas y de cereales son las mayores fuentes naturales de fitoesteroles y estas concentraciones pueden ser aumentadas a través del manejo agronómico. El pseudocereal amaranto puede alcanzar 178 mg de fitoesteroles por 100 g, valor cinco veces superior a la harina refinada de trigo. Es muy probable que el contenido de fitoesteroles pueda aumentarse al sembrar los cultivos en zonas más cálidas y secas. Estrategias agronómicas como riego deficitario, fertilización y fecha de siembra pueden afectar las

concentraciones de este bioactivo, pero se requiere de más estudios para su correcta implementación. La selección intraespecífica de genotipos con mayor contenido de fitoesteroles y el estudio de la interacción GxA, permitirá la identificación de genotipos con adaptación local para este carácter y el manejo de estos factores productivos podrá aumentar la oferta y el contenido de fitoesteroles en alimentos naturales.

Aplicando estas estrategias se puede mejorar la oferta de alimentos naturales ricos en fitoesteroles lo que puede contribuir a mejorar la dieta y a reducir la prevalencia de las enfermedades crónicas no transmisibles, integrando el conocimiento en nutrición, salud, agricultura y ambiente.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado por CORFO Innova Línea 1. Código 2013-25477.

REFERENCIAS

1. Roche Y, Gerbeau P, Buhot B, Thomas D, Bonneau L, Gresti J, Mongrand S, Perrier J. Depletion of phytosterols from the plant plasma membrane provides evidence for disruption of lipid rafts. *FASEB J* 2008, 22: 980-991.
2. Brufau G, Canela M, Rafecas, M. Phytosterols: physiologic and metabolic aspects related to cholesterol-lowering properties. *Nutr Res* 2008, 28: 217-225.
3. Schaller H. The role of sterols in plant growth and development. *Prog Lipid Res* 2003, 42: 163-175.
4. Kessler A, Baldwin I. Plant responses to insect herbivory: the emerging molecular analysis. *Annu Rev Plant Biol* 2002, 53:299-328.
5. Lattanzio V, Lattanzio V, Cardinali A. Role of phenolics in the resistance mechanisms of plants against fungal pathogens and insects. *Phytochemistry: Advances in Research* 2006, 23-67.
6. Ramakrishna A, Ravishankar G. Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. *Plant Signal Behav* 2011, 6: 1720-1731.
7. Ramadan M. Tocol and phytosterol composition of edible oils in the Egyptian market. *J Food Process Pres* 2012, 36: 531-538.
8. Fernandes P, Cabral J. Phytosterols: applications and recovery methods. *Bioresource Technol* 2007, 98: 2335-2350.
9. Gajewski M, Przybyl J, Kosowskaand O, Szymczak P. Some factors influencing free sterols content in broccoli (*Brassica oleracea* L. var. *Botrytis Italicalica* Plenck). *J Food Biochem* 2009, 33: 881-894.
10. Han J, Yang Y, Yuang M. Contents of phytosterols in vegetables and fruits commonly consumed in china.

- Biomed Environ Sci 2008, 21: 449- 453.
11. Benveniste, P. Sterol metabolism. Meyerowitz EM, Somerville C (eds) *The Arabidopsis book*. American Society of Plant Biologists 2002; 1–31.
 12. Amar S, Becker H, Moellers C. Genetic variation in phytosterol content of winter rapeseed (*Brassica napus* L.) and development of NIRS calibration equations. *Plant Breed* 2009, 128: 78-83.
 13. OECD. Estadísticas de la OCDE sobre la salud 2014 Chile en comparación. En <http://www.oecd.org/els/health-systems/Briefing-Note-CHILE-2014-in-Spanish.pdf> [Citado el 9 de Diciembre de 2015].
 14. MINSAL. Ministerio de Salud. Encuesta Nacional de Salud ENS 2009-2010. En <http://web.minsal.cl/portal/url/item/bcb03d7bc28b64dfe040010165012d23.pdf> [Citado el 17 de Junio de 2015].
 15. MINSAL. Ministerio de Salud. Ministerio de Salud. Normas técnicas sobre directrices nutricionales que indican, para la declaración propiedades saludables de los alimentos. Resolución Exenta N° 764/09. En http://web.minsal.cl/reglamento_san_alimentos [Citado el 17 de Junio de 2015].
 16. Crovetto M, Uauy R. Changes in processed food expenditure in the population of Metropolitan Santiago in the last twenty years. *Rev Méd Chile* 2012, 140:305-312.
 17. Crovetto M, Uauy R, Martins A, Moubarac J, Monteiro C. Household availability of ready-to-consume food and drink products in Chile: impact on nutritional quality of the diet. *Rev Méd Chile* 2014, 142:850-858.
 18. Louzada M, Martins A, Canella D, Baraldi L, Levy R, Claro R, Moubarac J, Cannon G, Monteiro C. Ultra-processed foods and the nutritional dietary profile in Brazil. *Rev Saúde Pública* 2015, 49:1-11.
 19. MINSAL. Ministerio de Salud. Guías de Alimentación Sana. En http://web.minsal.cl/alimentos_nutricion [Citado el 29 de Julio de 2015].
 20. Araya H, Lutz R. Alimentos funcionales y saludables. *Rev Chil Nutr* 2003, 30: 8-4.
 21. Pollak OJ, Kritchevsky D. Sitosterol. In: Clarkson, T.B., Kritchevsky D, Pollak OJ (Eds.). *Monographs on Atherosclerosis*. Karger, Basel, Switzerland. 1981; 219p.
 22. Valenzuela A, Ronco A. Fitoesteroles y fitoestanoles: aliados naturales para la protección de la salud cardiovascular. *Rev Chil Nutr* 2004, 31: 161-169.
 23. Cusack L, Fernandez M, Volek J. The food matrix and sterol characteristics affect the plasma cholesterol lowering of phytosterol/phytostanol. *Adv Nutr* 2013, 4: 633–643.
 24. Laitinen K, Gylling H. Dose-dependent LDL-cholesterol lowering effect by plant stanol ester consumption: clinical evidence. *Lipids Heal Dis* 2012; 11:140.
 25. Clifton P, Noakes M D S, Al, E. Cholesterol-lowering effects of plant sterol esters differ in milk, yoghurt, bread and cereal. *Eur J Clin Nutr* 2004, 58: 503–509.
 26. Costa J, Amaral J, Mafra I, Oliveira B. Refining of Roundup Readysoya bean oil: Effect on the fatty acid, phytosterol and tocopherol profiles. *Eur J Lipid Sci Tech* 2011, 113: 528-535.
 27. Fernandez A, Velasco L, Fernandez J. Phytosterols in the seeds of wild sunflowers species. *HELIA* 2011, 34: 31-38.
 28. Shin E, Pegg R, Phillips D, Eitenmiller R. Commercial peanut (*Arachis hypogaea* L.) cultivars in the United States: phytosterol composition. *J Agric Food Chem* 2010, 58: 9137-9146.
 29. Piironen V, Lindsay D, Miettinen T, Toivo J, Lampi, A. Review. Plant sterols: Biosynthesis, biological function and their importance to human nutrition. *J Sci Food Agric* 2000, 80: 939–966.
 30. Ryan, E., K. Galvin, T. O’Connor, A. Maguire and N. O’Brien. Phytosterol, squalene, tocopherol content and fatty acid profile of selected seeds, grains and legumes. *Plant Foods Hum Nutr* 2007, 62: 85-91.
 31. Zangerberg M, Boskov H, Jørgensen J, Hellgren L. Cultivar and year to year variation of phytosterol content in rye (*Secale cereal* L.). *J Agric Food Chem* 2004, 52: 2593-2597.
 32. Singh V, Moreau R, Hicks K. Yield and phytosterol composition of oil extracted from grain sorghum and its wet-milled fractions. *Cereal Chem* 2003, 80:126-129.
 33. Achigan E, Sogbohossou O, Maundu P. Current knowledge on *Amaranthus* spp.: research avenues for improved nutritional value and yield in leafy amaranths in sub-Saharan Africa. *Euphytica* 2014, 197: 303-317.
 34. Valcárcel-Yamani B, Caetano da Silva S. Applications of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) and amaranth (*Amaranthus* spp.) and their influence in the nutritional value of cereal based foods. *Food Public Health* 2012, 2: 265-275.
 35. Fernando T, Bean G. A comparison of the fatty acids and sterols of seeds of weedy and vegetable species of *Amaranthus* spp. *J Am Oil Chem Soc* 1985, 62: 89-91.
 36. Ogrodowska D, Zadernowski R, Czaplicki S, Derewiaka D, Wronowska B. Amaranth seeds and products – The source of bioactive compounds. *Polish J Food Nutr Sci* 2014, 64: 1-6.
 37. Marcone M, Kakuda Y, Yada R. Amaranth as a rich dietary source of sitosterol and other phytosterols. *Plant Food Hum Nutr* 2004, 58: 207–211.
 38. Andrade de Castro L, Manólio R, Saldiva P, Ferrari R, Miguel A, Almeida C, Gomes J. Amaranth oil increased fecal excretion of bile acid but had no effect

- in reducing plasma cholesterol in hamsters. *Lipids* 2013, 48:609–618.
39. Alignan M, Roche J, Bouniols A, Cerny M, Mouloungui Z, Merah O. Effects of genotype and sowing date on phytostanol-phytosterol content and agronomic traits in wheat under organic agriculture. *Food Chem* 2009, 117: 219-225.
 40. Vlahakis C, Hazebroek, J. Phytosterol accumulation in canola, sunflower, and soybean oils: effects of genetics, planting location, and temperature. *J Am Oil Chem Soc* 2000, 77: 49-53.
 41. Määttä K, Lampi A, Petterson J, Fogelfors B, Piironen V, Kamal A. Phytosterol content in seven oat cultivars grown at three locations in Sweden. *J Sci Food Agric* 1999, 79: 1021-1027.
 42. Chen, Y. Effect of genotype and environment on nutritional and health beneficial compounds in wheat grain. Beijing, China. China Agricultural University. 2004. 65p.
 43. Nguyen H, Neelakadan A, Quach T, Valliyodan B, Kumar R, Zhang Z, Nguyen, H. Molecular characterization of Glycine max squalene synthase genes in seed phytosterol biosynthesis. *Plant Physiol Biochem* 2013, 73: 23-32.
 44. Beleggia R, Platani C, Nigro F, De Vita P, Cattivelli L, Papa R. Effect of genotype, environment and genotype-by-environment interaction on metabolite profiling in durum wheat (*Triticum durum* Desf.) grain. *J Cereal Sci* 2013, 57: 183-192.
 45. Haddada F, Manaï H, Oueslati I, Daoud D, Sánchez J, Osorio E, Zarrouk M. Fatty Acid, Triacylglycerol, and Phytosterol composition in six Tunisian olive varieties. *J Agric Food Chem* 2007, 55: 10941-10946.
 46. Plumb J, Rhodes M, Lampi A, Buchgraber M, Kroon P. Phytosterols in plant foods: Exploring contents, data distribution and aggregated values using an online bioactives database. *J Food Compos Anal* 2011, 24: 1024–1031.
 47. Sawadikiat P, Hongsprabhas P. Phytosterols and γ -oryzanol in rice bran oils and distillates from physical refining process. *Int J Food Sci Technol* 2014, 49: 2030-2036.
 48. Ruggiero A, Vitalini S, Burlini N, Bernasconi S, Iriti M. Phytosterols in grapes and wine, and effects of agrochemicals on their levels. *Food Chem* 2013, 141: 3473–3479.
 49. Asami T, Yoshida, S. Brassinosteroid biosynthesis inhibitors. *Trends Plant Sci* 1999, 4: 348–353.
 50. Krishna P. Brassinosteroid-mediated stress responses. *J Plant Growth Regul* 2003, 22: 289–297.
 51. Chen Y, Dunford N, Edwards J, Carver B, Goad C. Genotype and environment affect phytosterol content and composition of wheat. *Cereal Chem* 2009, 86: 96-99.
 52. Britz S, Prasad P, Moreau R, Allen L, Kremer D, Boote K. Influence of growth temperature on the amounts of tocopherols, tocotrienols, and γ -oryzanol in brown rice. *J Agric Food Chem* 2007, 55: 7559-7565.
 53. Chung, I., Yong S, Lee J, Kim S. Effect of genotype and cultivation location on β -sitosterol and α -, β -, γ -, and δ -tocopherols in sorghum. *Food Res Int* 2013, 51: 971–976.
 54. Gül M, Egesel C, Tayyar S, Kahriman, F. Changes in phytosterols in rapeseed (*Brassica napus* L.) and their interaction with nitrogen fertilization. *Int J Agric Biol* 2007, 9: 250-253.
 55. Via S, Lande R. Genotype-environment interaction and the evolution of phenotypic plasticity. *Evolution* 1985, 39: 505-522.
 56. FDA. Health claims: plant sterol/stanol esters and risk of coronary heart disease (CHD). En <http://www.ecfr.gov/cgi-bin/textidx?c=ecfr;sid=502078d8634923edc695b394a357d189;rgn=div8;view=text;node=21%3A2.0.1.1.2.5.1.14;idno=21;cc=ecfr> [Citado el 16 de Junio de 2015].
 57. EFSA. Blood cholesterol reduction health claims on phytosterols can now be judged against EFSA new scientific advice. En <http://www.efsa.europa.eu/en/press/news/nda090731.htm> [Citado el 16 de Junio de 2015].
 58. ANVISA. Alimentos com Alegações de Propriedades Funcionais e ou de Saúde, Novos Alimentos/Ingredientes, Substâncias Bioativas e Probióticos. En http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecnologia_lista_alega.htm [citado el 16 de junio 2015].

Recibido: 28-09-2015

Aceptado: 11-12-2015

Nutritional status and cardiovascular risks in children of two schools in Bogotá, Colombia

Sorany Vera, Jenifer Tatiana Figueroa, Luz Helena Aranzález, Ismena Mockus.

Lipids and Diabetes Division, Department of Physiological Sciences,
National University of Colombia. Bogotá, Colombia.

SUMMARY:

This is a cross-sectional observational study. Children's weight, height, blood pressure, serum levels of total cholesterol, triglycerides, HDL cholesterol, LDL cholesterol and non-HDL cholesterol were objectively measured from participants. Statistical analysis was performed using the ANOVA technique for parametric data and the Kruskal-Wallis test for nonparametric data. Study was conducted on 157 children aged 7-9 from two educational institutions located in low-income areas in Bogotá, Colombia. Weight excess (overweight and obesity) was observed in 46 subjects, of which 97.8% had a high or very high waist circumference. The lipid profile was altered in 45.2% of the subjects; 22.3% presented high levels of triglycerides. Metabolic syndrome was identified in 32.6% of the subjects with excess weight, thus being the most frequent component of high or very high waist circumference. Finally this study confirmed the high prevalence of malnutrition by excess weight and, also excess weight associated with high triglyceride and low HDL levels. The results of this study suggest the need for early and thorough interventions aimed at improving the lifestyles and quality of life of children.

Key words: Cardiovascular risk, metabolic syndrome, dyslipidemia, children, overweight, obesity, childhood hypertension.

RESUMEN. Estado nutricional y riesgo cardiovascular en escolares de dos colegios de Bogotá, Colombia.

Este es un estudio observacional transversal. Se realizó valoración antropométrica, bioquímica y de presión arterial en 157 niños y niñas con edades de 7 a 9 años de dos instituciones educativas, localizadas en sectores con recursos económicos limitados de Bogotá. Se determinó niveles séricos de colesterol total, triglicéridos, colesterol HDL, colesterol LDL y colesterol no-HDL. Se realizó análisis estadístico mediante la técnica de ANOVA para datos paramétricos y la prueba de Kruskal-Wallis para datos no paramétricos. Se observó exceso de peso (sobrepeso y obesidad) en 46 sujetos de los cuales el 97.8 % presentó circunferencia de cintura alta. El perfil lipídico se encontró alterado en el 45.2 % de los sujetos; el 22.3% presentaron triglicéridos elevados. El síndrome metabólico se identificó en el 32,6% de los sujetos con exceso de peso, siendo el componente más frecuente la circunferencia de cintura alta. En este estudio se pudo confirmar la alta prevalencia de malnutrición por exceso y también el exceso de peso asociado a valores altos de triglicéridos y niveles bajo de HDL. Este estudio sugiere la necesidad de intervenciones tempranas e integrales enfocadas a mejorar los estilos y calidad de vida de los niños y niñas.

Palabras clave: Riesgo cardiovascular, síndrome metabólico, dislipidemia, niños, sobrepeso, obesidad, hipertensión infantil.

INTRODUCTION

In recent years there has been an increasing number of cases associated with cardiovascular disease (CVD) that, according to the World Health Organization (WHO), are the leading cause of death worldwide. Several studies have shown that the prevalence of overweight (OW) and obesity (OB) in children has also increased, which is a cause for concern, not only for its short-term consequences, but also for their health condition in adulthood (1, 2) as

it is closely linked to the subsequent development of cardiovascular disease, increasing the risk of mortality at a young age. In a study of children and adolescents in Bogalusa, the connection between body mass index (BMI) and the accumulation of fat and atherosclerotic plaques in coronary arteries has been proved; a strong link between cardiovascular risk factors and BMI was also discovered showing a positive relationship with the levels of total cholesterol (total-c), LDL cholesterol (LDL-c), very low density lipoproteins (VLDL) and arterial pressure (AP) (1).

In Colombia, child obesity and overweight have increased (every 6th infant between 5 and 17 years presents OW or OB)(3), which have been corroborated in studies of schools in Bogotá(4). Part of the explanation for this phenomenon is the increase in sedentary lifestyle. The 2010 Encuesta Nacional de la Situación Nutricional de Colombia (ENSIN – National Survey of the Nutritional Situation in Colombia) reports that 57.9% of children aged 5 to 12 watch TV or play video games 2.4 hours or more a day, and adolescents 2.8 hours per day (3).

Several studies have shown that the most important factors in the appearance of OW and child OB are inadequate eating habits and physical inactivity (5); these factors also affect the level of circulating lipids; has been observed, in other studies, a significant relationship between cholesterol and lipoproteins in childhood to adulthood(6).

Dyslipidemia and OB are the result of multiple causative factors that, among others things, include: genetic; environmental and socio-cultural factors; eating habits; lifestyle; and physical activity(7). It is necessary to study the behavior of these variables to increase knowledge of this problem in the population and contribute to the implementation of contextualized strategies (5).

Another measurement that has become important because of its relationship with cardiovascular risk is waist circumference (WC), which is an indicator of the amount of visceral adipose tissue. Several studies have reported that this circumference is correlated with a family history of diabetes, high levels of LDL-c, low HDL cholesterol (HDL-c) and high AP (5). Measuring waist circumference is important, because the abdominal adiposity is a predictor of CVD and type 2 diabetes, even independently of BMI(6).

MATERIALS AND METHODS:

FA cross-sectional observational study was conducted to identify levels of cardiovascular risk factors and nutritional status of children aged 7-9 in two educational institutions in the city of Bogotá during the second semester of 2014. The study was approved by the Ethics Committee of the Faculty of Medicine at the National University of Colombia.

The population consisted of all students between 7 to 9 years 11 months, enrolled in educational

institutions in February 2014, with 230 subjects of Llano Oriental School (IED Llano Oriental) and 142 of Liceo Integral Los Alisos. Of the two institutions 185 subjects complied with the inclusion criteria and provided their informed consent (according to the current regulations for human subject research, resolution 08430/1993 of the Ministerio de Salud de Colombia); 3 boys and 4 girls were not present at the time of the assessments, so 178 children were included in the study. Given the amount of time that had passed since providing consent, 21 children were 10 years old at the time of the nutritional assessments, and therefore were not included in the statistical analysis. Thus, the final study group was composed of 157 subjects (70 boys and 87 girls).

Anthropometry: Weight was measured on a precision digital scale (Tanita), the participants were barefoot and wearing light clothing. Height was measured with stadiometer (SECA) applying the techniques according the Manual of techniques for anthropometric measurements to health professionals. According to the instructions for the implementation of the growth patterns of WHO in Colombia for children and adolescents of 0-18 years (8).

Nutritional interpretation was performed according to The WHO Child Growth Standards for children of 5-18 years(8).

The Waist Circumference (WC) was measured in the horizontal plane at the midpoint between the last right rib and the iliac crest using an inelastic fiberglass tape (OMS). Values of CDC was used to assess high/waist circumference(9).

Blood samples were taken from the antecubital vein after 12 hours of fasting. To determine the lipid profile and blood glucose levels, samples were set in the centrifuge at 3500 xg for 5 minutes and the serum obtained was stored at -20 °C. Enzymatic spectrophotometric techniques were used to determine total-c, triglycerides (TG), HDL-c and glucose; LDL-c was calculated using the Friedewald equation and non-HDL cholesterol (non-HDL-c) by the difference in total-c – HDL-c. A classification of the risk of fractions of the lipid profile was undertaken according to the NHLBI guide for screening and cholesterol cutoffs, referencing the study of The National Cholesterol Education Program, which also considers the levels of c-non-HDL (10).

Although the Metabolic Syndrome (MS) should not be diagnosed in children under 10 years (Diabetes Federation (11)) we want to identify the possible cardiovascular risk associated with metabolic syndrome in children in this study. Cook's parameters were used as reference to identify alterations of metabolic syndrome (Cook et al (12)) ($WC \geq p90$, systolic and / or diastolic ≥ 90 Pc for age, $TG \geq 110$ mg / dL, $HDL \leq 40$ mg / dL or fasting blood glucose levels ≥ 100 mg / dL).

The Blood Pressure (BP) was obtained using an aneroid sphygmomanometer with a cuff appropriate for the arm circumference and age of the participant (Starmed CE 0123). The measurements of were performed in duplicate, and the mean of the 2 readings was used as the final measure. National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Children and Adolescents study was used to assess BP in children considering gender, age and height (13).

Statistical analysis

The subjects were classified into six groups according to BMI, height and waist circumference. The groups were: 1) risk of thinness, 2) adequate weight, 3) overweight, 4) obesity 5) risk of stunting or low height and 6) high or very high waist circumference without being overweight or obese according to BMI. The database was processed using the R2012a program MATLAB (7.14.0.739) Mathworks for the analysis of the anthropometric variables and lipid profile. The Shapiro-Wilk test was used to determine normality, and Levene's test for homogeneity of data.

The ANOVA technique (analysis of variance) was used to compare parametric data (for normality and homogeneity) and the Kruskal-Wallis test was used for nonparametric data. Numerical variables were expressed as mean, standard deviation and percentages.

RESULTS

Anthropometric data and biochemical variables of the studied population are shown in Table 1.

19.1% of children were within desirable limits for lipid profile variables (Table 1), though it was evident that the majority of participants (45.2%) had elevated levels of some variable lipid profile and

alarm levels (bordering on 37.5%) according to level limits recommended by the NHLBI (Figure 1). There were no cases of c-LDL higher than 160 mg /dL. All children had blood glucose levels within reference values (Table 4).

Further, the study showed that 46 children (29, 3%) presented weight excess (OW and OB) (Table 2), of which 97.8% had high or very high WC (greater than the 75th percentile); only one OW participant presented adequate WC. The groups of subjects with OW and OB had a WC significantly higher than eutrophic children and children with risk of thinness ($p < 0.01$). 19.1% of subjects with adequate weight presented high WC.

In addition, 56.5% of children with weight excess presented at least one altered variable in the lipid profile and 26.1% were found in the border range of any other variable, indicating that 82.6% of children with weight excess have cardiovascular risk. Non-significant differences between the groups were found in values of total-C, TG, LDL-C and non-HDL-c, but a significant difference in the levels of HDL-c between groups of subjects with OB and healthy children ($p < 0.05$) was seen (Table 4).

It was observed that the prevalence of high diastolic and systolic pressure values in subjects with OW was 8.6 and 5.7 times more than in eutrophic children, respectively. In OB, the probability of elevated systolic blood pressure (SBP) and diastolic blood pressure (DBP) was 18.8 and 9.4 times respectively compared to eutrophic subjects. Table 3 shows the significant difference found in DBP and SBP among subjects with OB and eutrophic, as well as the SBP in children with OW vs. eutrophic.

The waist to height ratio ((WHtR) was calculated as a parameter predictor of cardiovascular risk reported by other authors calculated in children and adults (14, 15). The results for the different groups are found in Table 5.

Diagnosis of metabolic syndrome was made with insulin resistance and abdominal obesity as the main components. At least three altered criteria were taken into account, a prevalence of metabolic syndrome in 32.6% was found in OW and OB children (15 subjects).

TABLE 1. Mean and standard deviation of the different variables by sex.

Variable	Sex					
	Total		Female		Male	
	\bar{X}	DS	\bar{X}	DS	\bar{X}	DS
Age (years)	8.7	0.7	8.7	0.7	8.7	0.7
Weight (kg)	28.6	5.9	28.1	5.2	29.1	6.6
Height (cm)	128.4	6.8	128.3	7.4	128.4	6.0
BMI weight(kg) / height(m) ²	17.2	2.4	17.0	2.1	17.5	2.7
Waist circumference (cm)	60.3	7.4	59.4	6.6	61.3	8.1
Cholesterol (mg/dL)	162.0	26.7	157.5	24.1	167.7	28.7
Triglycerides (mg/dL)	85.5	39.5	86.5	40.5	84.2	38.5
LDL- Cholesterol (mg/dL)	97.4	21.9	93.9	19.6	101.7	23.9
HDL- Cholesterol (mg/dL)	47,5	10,2	46.2	9.9	49.1	10.3
Non HDL- Cholesterol (mg/dL)	114,5	24,1	111.3	21.2	118.6	26.9
Glycemia (mg/dL)	86,7	6,6	86.1	6.6	87.5	6.7

BMI: Body mass index.

TABLE 2. Nutritional classification according to BMI by sex in the two educational institutions

Nutritional classification by BMI	Educational institutions		
	Liceo Los Alisos	IED Llano Oriental	Total
Female	29.0%	25.6%	54.7%
Adequate	16.1%	16.5%	32.6%
Overweight	7.0%	6.5%	13.6%
Obesity	2.3%	1.6%	4.0%
Risk of thinness	0.5%	0.0%	0.5%
Risk of stunting or low height	3.1%	1.0%	4.1%
Male	20.9%	24.4%	45.3%
Adequate	12.6%	13.7%	26.3%
Overweight	3.5%	4.2%	7.7%
Obesity	2.7%	6.5%	9.2%
Risk of thinness	2.1%	0.0%	2.1%
Total	49.9%	50.1%	100%

Percentage of children classified according lipid profile

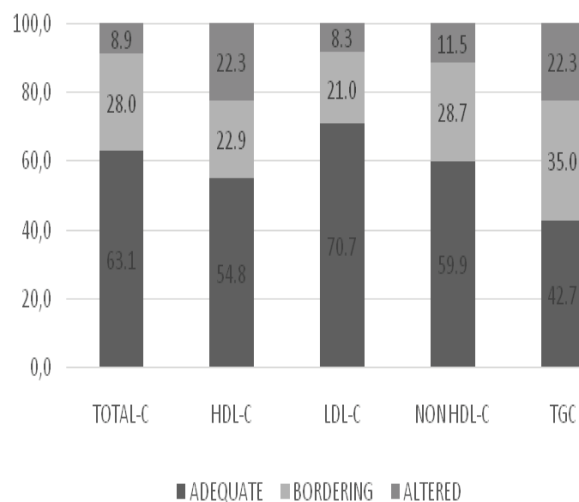


FIGURE 1. Percentage of children ranked by breakpoints for lipid profile of the NHLBI.

TABLE 3. Mean values and standard deviation of the different anthropometric variables and arterial pressure by groups of nutritional classification according to weight and height.

Nutritional Classification	N°	Weight kg		Height cm		BMI kg/m ²		WC cm		Arterial pressure			
		\bar{X}	SD	\bar{X}	SD	\bar{X}	SD	\bar{X}	SD	Syst	Diast	\bar{X}	SD
Eutrophic	43	25.7	2.6	127.2	5.2	15.8	0.7	55.5 ^a	2.0	97.4 ^{a,b}	6.6	62.8 ^{a,b}	6.5
Risk of thinness	13	22.8	2.2	127.5	5.6	14.0	0.4	51.7 ^a	3.0	98.2 ^a	6.9	66.2 ^{a,b}	5.3
Risk of low height	28	23.9	2.4	121.7	4.4	16.1	0.8	55.8 ^a	2.9	98.7 ^{a,b}	7.8	63.6 ^a	6.1
Overweight	30	31.5	3.7	128.2	6.6	19.1	0.8	64.7 ^b	3.6	103.2 ^{a,c}	8.5	66.9 ^a	7.6
Obesity	16	40.2	4.9	134.3	4.6	22.3	2.1	74.6 ^b	6.9	112.7 ^{a,c}	6.8	71.6 ^{a,c}	7.6
High WC	27	30.5	3.0	134.0	5.4	16.9	0.6	62.8 ^b	3.2	99.6 ^a	7.6	65.6 ^a	6.9

BMI: Body mass index

WC: Waist circumference.

Mean values within a column with unlike superscript letters (a, b, c) were significantly different ($P < 0.05$) using Kruskal-Wallis test.

TABLE 4. Mean values and standard deviation of the biochemical variables by group of nutritional classification according to weight and height.

Nutritional Classification	N°	Glicemia		Total Cholesterol		HDL Cholesterol		LDL Cholesterol		Triglycerides	
		\bar{X}	SD	\bar{X}	SD	\bar{X}	SD	\bar{X}	SD	\bar{X}	SD
Eutrophic	43	87.2 ^a	5.4	164.4 ^a	27.1	50.7 ^{a,b}	11.0	98.3 ^a	22.7	77.0 ^a	28.8
Risk of thinness	13	84.5 ^a	8.7	155.3 ^a	16.6	45.1 ^a	4.3	94.8 ^a	16.3	77.2 ^a	18.1
Risk of low height	28	85.7 ^a	8.2	158.8 ^a	23.4	49.7 ^a	9.8	93.5 ^a	19.9	77.9 ^a	26.2
Overweight	30	87.6 ^a	7.5	164.1 ^a	27.4	44.9 ^a	9.8	101.6 ^a	23.4	87.9 ^a	30.8
Obesity	16	88.8 ^a	5.5	160.1 ^a	27.9	41.4 ^{a,c}	10.8	96.8 ^a	18.0	113.2 ^a	73.2
High WC	27	85.9 ^a	4.7	163.1 ^a	32.5	47.7 ^a	9.4	97.1 ^a	25.8	91.6 ^a	47.8

Mean values within a column with unlike superscript letters (a, b, c) were significantly different ($P < 0.05$) using Kruskal-Wallis test.

WC: Waist circumference.

TABLE 5. Mean values and standard deviation of the waist–height ratio by group of nutritional classification.

	n°	waist–height ratio	
		\bar{X}	SD
Risk of thinness	13	0,41	0,02 ^{a,b}
Eutrophic	43	0,44	0,02 ^{a,b}
low height	28	0,46	0,02 ^{a,b}
High WC	27	0,47	0,03 ^{a,b}
Overweight	30	0,51	0,02 ^{a,c}
Obesity	16	0,56	0,05 ^{a,c}

Mean values within a column with unlike superscript letters (a, b, c) were significantly different ($P < 0.05$) using Kruskal-Wallis test.

DISCUSSION

In this study, a high prevalence of OW and OB was found in a school children population from disadvantaged socio-economic classes. As for other research in Colombia, similar results were found in a study conducted by Fajardo in Bogotá (4) where 22.4% of OW and 15.3% of OB in children 7-11 years of age were reported. In turn, Uscátegui in Medellín (2) found that only 9.3% of children were OW and 4.6% OB, which may reflect cultural differences associated with nutritional status in different regions of the country. This high prevalence suggests that weight excess is a public health problem resulting from various factors such as the current food insecurity in disadvantaged socioeconomic classes of countries with intermediate economies, which have increased risk of OB as opposed to the high economic stratum (16).

The OB has generated an increasingly frequent

occurrence of noncommunicable diseases related to nutrition, which in turn generate additional health costs for treatment and its consequences (16). Although clinical manifestations of CVD usually do not make their appearance until middle age, the atherosclerotic process begins at the earliest stages of life and altered lipoprotein levels are associated with atherosclerosis in youth. In assessing the lipid profile of children, serum alterations of TG, non-HDL-c and HDL-c are found, suggesting an increased risk for these children to develop CVD, with similar results to those described by Rosillo in Argentina (17) and Uscátegui in Medellín (2). The percentage of children with high TG in our study was higher than reported in Mexico (18), but lower than described in Argentina and Venezuela (17, 19), which is possibly due to different environmental and cultural conditions that influence the development of CVD.

The concentrations of LDL-c in our study were higher than those reported by Marcano (20) and similar to Leeson et al. (21), who found an inverse relationship between serum cholesterol levels and lower distensibility of the brachial artery in 9-11 years-old children. Regarding to HDL-c in this study, the total number of children with low HDL-c was 28.7% but it is worth noting that 11.5% were found to have levels between 40-45 mg/dL, which is considered borderline according to the breakpoints of the NHLBI. The percentage of patients with low HDL-C levels in our population is lower than those reported in other studies in Latin America (18, 20) even though they use the same breakpoint (<40 mg/dL). This difference could be explained by different lifestyles such as eating behaviors and physical inactivity (22).

In this study a higher frequency of elevated levels of c-no-HDL vs. LDL-C was found. The determination of non-HDL-c, was proposed by Bamba (23) as a detection tool for cardiovascular risk. The non-HDL-c can permit a timely intervention to identify children with components of MS or who are at risk; it can also be used to predict the severity of atherosclerosis and CVD in adults.

BSP and BDP prevalence were higher in this study in comparison with other research conducted in Mexico and Argentina (24, 25). The relationship between HBP (High blood pressure) and exogenous obesity is well known (26). Dei-Cas et al. found that 4.7% of female and 13% of male adolescents were

hypertensive, of which 7% were OB. Both BSP and BDP were correlated with BMI and OW (27). A similar situation was observed in this study about the positive relationship between weight excess (OW and OB) and high BSP and BDP levels, independently or combined. Lozada (19) also reported a statistically significant association between OB, hypertriglyceridemia and BP. Weight excess is strongly linked to HBP (24, 26). In this study the possibility of high SBP with OW increased 8.6 times, and the DBP was 5.7 times higher in comparison to children with normal weight; in the case of OB, the possibility of high SBP increases 18.8 times and for high DBP increases 9.4 times in comparison to eutrophic children, reflecting similar data found in a Mexican study (28).

The waist-to-height ratio (WHtR) has been considered by several studies as a good indicator of central adiposity which evaluates cardiovascular risk in adults and children (14), it is quick and easy to calculate in daily practice (29). Some authors have proposed a WHtR > 0.5, which would have a high predictive capacity of higher cardiovascular risk (15, 30). In this study we were able to identify the WHtR was statistically higher in children with OW and OB (> 0.5), which is considered a good predictor of cardiovascular risk, taking into account that these children had a higher number of alterations in blood pressure and lipid profile. Our results are consistent with those we found in other studies in child population, like Rangel et al. (14) who noticed a relationship between WHtR on the development of high blood pressure or hypertension in Mexican children. Also studies in the UK and Chile (15, 30, 31) demonstrated the relationship between the OW and obesity with an indicator > 0.5. WHtR has been reported as a better predictor of cardiovascular risk compared with waist-hip ratio and the BMI (14, 31, 32).

32.6% of children with weight excess in this study presented alterations associated to MS, which is higher than the percentages found in studies conducted in Venezuela (19) and Mexico (33) in older children.

In this study, the main alterations were identified: waist circumference values above the 90th percentile, low levels of HDL-c, and elevated TG. This agrees with the findings of Burrows et al. who demonstrated that in a population of children with MS the most common risk factor was abdominal obesity (76%), followed by hypertriglyceridemia (39%) and hyperglycemia (4%)

(34). In recent years, an increase in the diagnosis of MS has been observed, which could be attributed not only to the interest in detection, but also to the changes in lifestyle at an early age. Increase of MS in childhood leads to an increased frequency of noncommunicable diseases and worsens the prognosis of these diseases in adulthood. Early detection of MS components may then have a positive impact on the health of children and adults.

CONCLUSIONS

Dyslipidemia in children is a real problem, as during the study significant elevations of TG were observed as well as a decrease in HDL-C, which increases the risk of cardiovascular disease and leads to the premature development of MS.

Knowledge of the risk factors of CVD in children is very useful because it allows for prevention initiatives at an early age, which in turn reduces the incidence of cardiovascular disease in the future.

It has been suggested that the waist to height ratio (WHtR) above 5 can detect early cardiovascular risk factors, this was evidenced in overweight and obesity children.

ACKNOWLEDGEMENT

The authors wish to thank the students and the academic and administrative staff of educational institutions IED Llano Oriental and Integral Liceo los Alisos for their great help and support in the project.

REFERENCES

1. Freedman D, Dietz W, Srinivasan S, Berenson G. The relation of overweight to cardiovascular risk factors among children and adolescents: The Bogalusa Heart Study. *Pediatrics*. 1999; 103(6 Pt 1): p. 1175-82.
2. Uscátegui Peñuela , Álvarez Uribe , Laguado Salinas I, Soler Terranova , Martínez Maluendas , Arias Arteaga, R, et al. Factores de riesgo cardiovascular en niños de 6 a 18 años de Medellín (Colombia). *An Pediatr*. 2003; 58(5): p. 411-17.
3. Instituto Colombiano de Bienestar Familiar, Instituto Nacional de Salud, Ministerio de la Protección Social. Resumen Ejecutivo ENSIN 2010. Bogotá, Colombia; [Online]. 2011.[cited 2014 Nov 19] Available from: <http://www.bogotamasactiva.gov.co/files/Resumen%20Ejecutivo%20ENSIN%202010.pdf>.
4. Fajardo Bonilla E, Ángel LA. Prevalencia de sobrepeso y obesidad, consumo de alimentos y patrón de actividad física en una población de niños escolares de la Ciudad de Bogotá. *Rev Med*. 2012 enero-junio; 20(1): p. 101-16.
5. Visser. Estado nutricional y perfil lipídico en escolares de 6 a 11 años en Aruba. *Rev Cubana Aliment Nutr*. 2008; 18(1): p. 32-42.
6. Heller-Rouassant S. Dislipidemias en niños y adolescentes: diagnóstico y prevención. *Bol Med Hosp Infant*. 2006 may.jun.; 63(3): p. 158-61.
7. Burrows A. R, Atalah S. E, Leiva B. L, Rojas M. P, Maza MP, Vásquez V. , et al. Prevalencia del síndrome metabólico en niños y adolescentes chilenos con historia familiar de enfermedades crónicas no transmisibles. *Arch Latinoam Nutr*. 2012; 62(2): p. 155-60.
8. Ministerio de la Protección Social. ICBF. Instituto Nacional de salud. Instructivo para la Implementación de los Patrones de Crecimiento de la OMS en Colombia. niños, niñas y adolescentes de 0 a 18 años Bogotá; 2010.
9. Control. Waist circumference in centimeters for persons 2 - 19 years-number of examined persons, means, standard error of the mean and selected percentiles, by sex and age: United States, 1988-1994. In: CDC; 1988- 1994. [Online]. 2009 [cited 22 April 2014]. Available from: www.cdc.gov/nchs/data/nhanes/t47.pdf.
10. NCEP. American Academy of Pediatrics. National Cholesterol Education Program: Report of the Expert Panel on Blood Cholesterol Levels in Children and Adolescents. *Pediatrics*. 1992; 89(suppl 3): p. 525-84.
11. Zimmet P, Alberti G, Kaufman F, Tajima N, Silink M, Arslanian S, et al. The metabolic syndrome in children and adolescents: the IDF consensus. *Diabetes Voice*. 2007; 52(4): p. 29-32.
12. Cook S, Weitzman M, Auinger P, Nguyen M, Dietz Wh. Prevalence of a Metabolic Syndrome Phenotype in adolescents: Findings from the Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1994. *Arch Pediatr Adolesc Med*. 2003; 157(8): p. 821-27.
13. National Cholesterol Education Program. Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) Final Report. Bethesda: Maryland: National Institutes of Health. Publication N° 02-5215. *Circulation* [Online]. 2002 [cited 20 Nov 2014];106 (25): 3143-22. Available from: <http://www.nhlbi.nih.gov/files/docs/resources/heart/atp3full.pdf>.
14. Rangel Baltazar E, Villalpando. Índice cintura/ estatura como predictor de presión arterial en niños mexicanos. *Revista de Investigación Clínica*. 2014; 66(1): p. 17-23.
15. Ashwell M, Hsieh S. Six reasons why the waist-to-height ratio is a rapid and effective global indicator for health risks of obesity and how its use could simplify the international public health message on obesity. *Int J Food Sci Nutr*. 2005; 56(5): p. 303-07.

16. Savino P. Obesidad y enfermedades no transmisibles relacionadas con la nutrición. *Rev Colomb Cir.* 2011; 26(1): p. 180-95.
17. Rosillo I, Pituelli N, Corbera M, ioi S, Turco M, D'Arrigo M, et al. Perfil lipídico en niños y adolescentes de una población escolar. *Arch. argent. pediatri.* 2005; 103(4): p. 293-97.
18. Palacios Mancilla S, Rubio Lezama M, De la Torre López M, Arrevillaga López A. Riesgo cardiovascular y alteraciones metabólicas en niños. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc.* 2012; 50(3): p. 285-88.
19. Lozada M, Machado S, Manrique M, Martínez D, Suarez O, Guevara H. Factores de riesgo asociados al síndrome metabólico en adolescentes. *Gac Méd Caracas.* 2008 Diciembre; 116(4): p. 323-29.
20. Marcano , Solano , Pontiles. Prevalencia de hiperlipidemia e hiperglicemia en niños obesos ¿riesgo aumentado de enfermedad cardiovascular? *Nutr Hosp.* 2006; 21(4): p. 474-83.
21. Leeson CPM, Whincup P, Cook DG. Cholesterol and Arterial Distensibility in the First Decade of Life. A Population- Based Study. *Circulation.* 2000; 101: p. 1533-38.
22. Väistö J, Aino-Maija E, Viitasalo A, Tompuri T, Lintu N, Karjalainen P, et al. Physical activity and sedentary behaviour in relation to cardiometabolic risk in children: cross-sectional findings from the Physical Activity and Nutrition in Children (PANIC) Study. *International Journal of Behavioral Nutrition and Physical Activity.* 2014; 11(55).
23. Bamba V. Update on Screening, Etiology, and Treatment of Dyslipidemia in Children. 2014 September; 99(9): p. 3093–102.
24. Cervantes J, Acoltzin C, Aguayo. Diagnóstico y prevalencia de hipertensión arterial en menores de 19 años en la ciudad de Colima. *Salud Pública Mex.* 2000; 42: p. 529-32.
25. Poletti O, Barioos L. Obesidad e hipertensión arterial en escolares de la ciudad de Corrientes, Argentina. *Arch Argent Pediatr.* 2007; 105(4): p. 293-98.
26. Carballo Martínez R, Bosch Salado C, Piñeiro Lamas R, Durán Almenares A, Fernández-Britto JE. La hipertensión y la obesidad en el niño como factores potenciales de riesgo aterosclerótico en el adulto joven. *Rev Cubana Invest Biomed.* 1998; 17(2): p. 173-78.
27. Dei-Cas SA, Dei-Cas IJ, Dei-Cas PG, Szyrma E, Ciancia L, Comas JP, et al. Estudio de la presión arterial en adolescentes de 15 años. Su relación con características antropométricas y factores de riesgo de hipertensión arterial. *Arch. argent. pediatri.* 2000; 98(3): p. 161-70.
28. Aregullin Eligio EO, Alcorta Garza MC. Prevalencia y factores de riesgo de hipertensión arterial en escolares mexicanos: caso Sabinas Hidalgo. *salud pública de méxico.* 2009 enero-febrero; 51(1): p. 14-8.
29. Arnaiz P, Marín , Pino F, Barja S, Aglony M, Navarrete C, et al. Índice cintura estatura y agregación de componentes cardiometabólicos en niños y adolescentes de Santiago. *Rev Med Chile.* 2010; 138(11): p. 1378-85.
30. Browning L, Hsieh S, Ashwell M. A systematic review of waist-to-height ratio as a screening tool for the prediction of cardiovascular disease and diabetes: 0.5 could be a suitable global boundary value. *Nutr Res Rev.* 2010; 23(2): p. 247-69.
31. Cerda R, Gálvez , Palomino , Vásquez , Morales G, Andrade M, et al. Concordancia entre índice cintura-talla y otros criterios para clasificar obesidad abdominal en escolares chilenos. *Rev Esp Nutr Comunitaria.* 2013; 19(1): p. 13-9.
32. Arnaiz P, Acevedo M, Díaz C, Bancalari R, Barja S, Aglony , et al. Razón cintura estatura como predictor de riesgo cardiometabólico en niños. *Rev Chil Cardiol.* 2010; 29(3): p. 281–88.
33. Castillo , Borges G, Talavera J, Orozco R, Vargas-Aleman C, Bravo G. Body mass index and the prevalence of metabolic syndrome among children and adolescents in two mexican populations. *J Adolesc Health.* 2007; 40: p. 521-26.
34. Burrows R, Leiva L, Weistaub G, Ceballos X, Gattas V, Lera L. Síndrome metabólico en niños y adolescentes: asociación con sensibilidad insulínica y con magnitud y distribución de la obesidad. *Rev Méd Chile.* 2007; 135(2): p. 174-81.
35. National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Children and Adolescents. The fourth report on the diagnosis, evaluation, and treatment of high blood pressure in children and adolescents. *Pediatrics.* 2004; 114(2): p. 555-76.

Recibido: 04-07-2015

Aceptado: 19-10-2015

Fósforo sérico en niños con desnutrición grave y su relación con el síndrome de realimentación

*Thais Álvarez de Acosta, Isabel Cluet de Rodríguez,
Mario Rosario Rossell Pineda, María Alejandra Castillo*

Servicio de Emergencia de Pediatría del Hospital Universitario de Maracaibo.
La Universidad del Zulia. Maracaibo. Venezuela.

RESUMEN: El síndrome de realimentación ocurre como consecuencia de la reintroducción de alimentos en pacientes malnutridos. Se realizó estudio de tipo observacional, prospectivo, no experimental y comparativo. Se midieron los niveles de fósforo en niños desnutridos graves y eutróficos al ingreso y al día 7 después de iniciada la alimentación con el objetivo de relacionar los niveles séricos de fósforo con el síndrome de realimentación en niños desnutridos graves atendidos en el Servicio de Emergencia de Pediatría Hospital Universitario de Maracaibo. Venezuela, desde junio 2010 hasta junio 2011. Se incluyeron 60 niños, entre 1 mes y 4 años, de ambos sexos, divididos en 2 grupos: Grupo A n=30 niños desnutridos graves y Grupo B n=30 niños eutróficos. En ambos grupos predominaron los lactantes de 1 a 23 meses con el 86,7% y el 60% respectivamente. Fueron del sexo masculino el 70% y 73% en cada grupo. El fósforo sérico en el grupo A al ingreso fue de $3,17 \pm 0,98$ mg/dl y a los siete días $2,48 \pm 1,01$ mg/dl, estadísticamente significativo $p = 0,002$; sin manifestaciones clínicas. En el grupo B no hubo significancia estadística con $p=0,569$ al comparar los valores del fósforo sérico al ingreso y al día 7. Tres niños del grupo A murieron. Se observó en el presente estudio que los niños desnutridos graves presentaron disminución del fósforo sérico al ser realimentados. Nuevas líneas de investigación deben hacerse para aumentar los conocimientos actuales sobre esta condición.

Palabras clave: Fósforo, desnutrición grave, eutrófico, niños.

SUMMARY. Serum phosphorus in malnourished children and its relationship with the syndrome of feedback Refeeding syndrome occurs as a result of the reintroduction of food in malnourished patients. Observational, prospective, non experimental and comparative study was performed. Phosphorus levels in severely malnourished children and healthy children was measured at admission and at 7 days after initiation of feeding in order to associate the concentration of serum phosphorus with refeeding syndrome in severely malnourished children hospitalized at the Pediatric Emergency Service University Hospital of Maracaibo, Venezuela, from June 2010 to June 2011. We included 60 children between 1 month and 4 years and both sexes, divided into 2 groups: Group A n = 30 serious malnourished children and Group B (control) n = 30 eutrophic children. In both groups predominated the infants 1 to 23 months with 86.7% and 60% respectively. 70% and 73% were male both group. In Group A, there was statistical significance between the serum phosphorus at the beginning (3.17 ± 0.98 mg/dl) and at seven days of hospitalization 2.48 ± 1.01 mg/dl, $p = 0.002$; without clinical manifestations. In Group B there was no statistical significance with $p=0,569$ to compare values of serum phosphorus income and day 7. Three children of the group A died. It was observed in this study that serious malnourished children presented the serum phosphorus decreased to be refueled. New lines of research should be expanded in this area to increase current knowledge about this condition.

Key words: Phosphorus, severe malnutrition, eutrophic, children.

INTRODUCCIÓN

La ingesta o asimilación deficiente de alimentos por el organismo conduce a un estado patológico de distintos grados de severidad, con distintas manifestaciones clínicas, que se llama desnutrición. Se presenta con grados de déficit antropométrico, signos y síntomas clínicos y alteraciones bioquímicas, hematológicas e inmunológicas. (1, 2).

La desnutrición en los niños menores de cinco años incrementa su riesgo de muerte, inhibe su desarrollo cognitivo y afecta a su estado de salud de por vida. La desnutrición puede ser grave, y esta se caracteriza y define según el Programa de Atención Integrada de las Enfermedades Prevalentes de la Infancia (AIEPI) para la Atención hospitalaria de niños y niñas de 1 mes a 4 años, cuando el peso para longitud/talla

(P/T) o índice de masa corporal (IMC) para la edad se encuentra por debajo de la línea de puntuación $Z - 3$ ($\geq - 3$ DE), con presencia de emaciación severa y/o edema (2,3).

La desnutrición infantil sigue siendo frecuente en muchos lugares del mundo. Las mayores tasas de retraso del crecimiento infantil se dan en África y Asia. En América Latina y del Caribe, se ha reconocido que alrededor de 25% de los niños presentan desnutrición, muchos de estos niños es probable que mueran antes de cumplir los cinco años (4). Venezuela no escapa de ésta realidad, el deterioro socioeconómico de los últimos 20 años ha traído como consecuencia un incremento en los índices de desnutrición infantil (5).

La desnutrición grave se clasifica desde el punto de vista clínico en dos tipos, el Marasmo y el kwashiorkor. El Marasmo (o intensa emaciación), es producto de una dieta pobre en proteínas y calorías, en combinación con muchas otras carencias, y esta caracterizado por un severo retraso del crecimiento. (1).

El kwashiorkor (malnutrición edematosa) fisiológicamente es una desnutrición más compleja que el marasmo porque sus efectos son más amplios debido a deficiencias en aminoácidos específicos por la ingesta pobre de proteínas y abundantes carbohidratos, cursa con edema de grado variable, desde una forma ligera localizada en pies y tobillos hasta el edema generalizado grave. Pese a no ser una manifestación necesaria para el diagnóstico, el retraso del crecimiento suele formar parte del cuadro clínico del kwashiorkor. Existe una forma mixta conocida como kwashiorkor marasmático (1).

El desnutrido grave requiere de una gran discreción al ser realimentado. Estos, son incapaces de tolerar las cantidades habituales de proteínas, grasas y sodio del régimen alimenticio. El inicio de la alimentación debe ser cauteloso, lento y con supervisión permanente, sobre todo durante los primeros días, ya que es en este momento cuando fallecen la mayor parte de pacientes que son tratados en forma inadecuada (4-8).

El síndrome de realimentación (SR) es un cuadro clínico complejo que ocurre como consecuencia de la reintroducción de la nutrición (enteral o parenteral) en pacientes malnutridos (9). Uno de los hechos fundamentales del SR es la hipofosfatemia severa, que se acompaña de anomalías en el balance de fluidos, alteraciones en el metabolismo hidrocarbonado y

ciertos déficits vitamínicos, por ejemplo de tiamina. También cursa con alteraciones del fósforo, potasio y del magnesio. (10). Este se traduce clínicamente en la aparición de alteraciones neurológicas, respiratorias, cardiovasculares y hematológicas pocos días después del inicio de la realimentación, lo que conlleva a un aumento de la morbilidad e incluso mortalidad del paciente (11). Durante la inanición experimentada por el desnutrido grave, la secreción de insulina se encuentra disminuida, en respuesta a la disminución en la ingesta de carbohidratos, mientras tanto, los depósitos musculares y de grasa son catabolizados para producir energía, lo que resulta en una pérdida de agua y electrolitos incluyendo el fosfato (12).

El fosfato es esencial para el funcionamiento celular, su valor sérico normal se mantiene en el estrecho margen que va de 2,5 a 4,5 mg/dl (1 mg/dl = 0,32 mmol/l), tiene un papel estructural como componente de los fosfolípidos, las nucleoproteínas y los ácidos nucleídos, desempeña un papel clave en rutas metabólicas, como la glucólisis y la fosforilación oxidativa y está implicado en el control de procesos enzimáticos a través de la fosforilación de proteínas (9,13). El fósforo es esencial para la formación del hueso y el metabolismo energético celular. (14,15). El fosfato actúa como cofactor de la gliceraldehído 3 fosfato deshidrogenasa, por lo que, en caso de hipofosfatemia, disminuye la producción de 2,3-difosfoglicerato (2,3-DPG) y de adenosina trifosfato (ATP). implicados en la regulación de la curva de disociación del oxígeno de la hemoglobina y por tanto, en la liberación de oxígeno a los tejidos (15-17).

La hipofosfatemia del SR típicamente aparece en los 3 hasta 7 primeros días tras el inicio del soporte nutricional. El fósforo es un importante buffer intracelular y es esencial para el intercambio de iones de hidrógeno en el riñón, por otro lado, optimiza la función leucocitaria al permitir la quimiotaxis y la fagocitosis y participa en la función plaquetaria y puede ocasionar trombocitopenia, trastornos en la agregación plaquetaria y hemorragias secundarias (9,18-21). La disfunción respiratoria en pacientes con hipofosfatemia es secundaria al descenso de la glucólisis y a la caída en los valores de ATP en los músculos respiratorios alterando la contractilidad diafragmática. El cuadro clínico puede presentarse como un descenso de la capacidad vital y fallo respiratorio (13). El mecanismo de la disfunción

nerológica en la hipofosfatemia está poco claro, pero se ha sugerido que la hipoxia tisular secundaria a la anemia hemolítica y al aumento de la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno podría ser la causa. Las alteraciones neurológicas descritas son: parálisis de pares craneales, parestesias, cansancio, tetania, alucinaciones, convulsiones, letargo, parálisis arrefléxica aguda, confusión y coma (16).

Durante la realimentación, principalmente cuando a un paciente con desnutrición se le administran carbohidratos y aminoácidos por cualquier ruta, existe un cambio rápido en el metabolismo de los mismos y se produce un incremento en la liberación de insulina, lo cual induce un recambio transcelular de fósforo y potasio caracterizado principalmente por un aumento en su captación celular y por consiguiente la disminución de sus niveles séricos (20,24).

Dentro de la literatura nacional, no se han realizados estudios en relación al síndrome de realimentación en la población infantil, por lo que surge el propósito de realizar el siguiente trabajo de investigación, con el objetivo de relacionar los niveles séricos de fósforo con el síndrome de realimentación en niños desnutridos graves atendidos en Unidad de Capacitación para la Atención Integral de las Enfermedades Prevalentes de la Infancia (UCAIEPI) del Servicio Autónomo Hospital Universitario de Maracaibo (SAHUM) durante el periodo de junio de 2010 a junio de 2011.

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño y muestra del estudio

Se realizó un estudio observacional, prospectivo, no experimental y comparativo, con el objetivo de determinar los niveles de fósforo, y su relación con el síndrome de realimentación, en niños desnutridos graves, de 1 mes a 4 años de edad, ingresados en el Servicio de Emergencia de Pediatría del Hospital Universitario de Maracaibo, de la ciudad de Maracaibo Estado Zulia, Venezuela, durante el período de junio de 2010 a junio de 2011.

Población y muestra:

Se incluyeron sesenta (60) niños, de ambos géneros, divididos en 2 grupos: grupo A o estudio, n=30, constituido por niños desnutridos graves con diferentes patologías infecciosas o no infecciosas agudas, de los que 03 pacientes fallecieron súbitamente,

02 niños al día 5 y 01 al día 6, luego de reiniciada la alimentación. Y grupo B o control n=30, constituido por niños eutróficos, quienes igualmente, presentaron a su ingreso patologías infecciosas agudas o de otra índole, quienes egresaron por mejoría clínica en su totalidad.

Método y procedimiento:

Para la realización de este estudio, se informó detalladamente a cada madre o cuidador responsable, sobre el objetivo de la presente investigación, así mismo se les preguntó si permitirían que sus hijos fueran incluidos en el mismo, y se les hizo conocer que serían sometidos a la toma de 2 muestras sanguíneas. En las que accedieron se les pidió la firma y su huella dactilar en un físico de consentimiento informado, previamente analizado y avalado, tanto por la Dirección de Investigación Planificación y Docencia Institucional (DIPLADOIN) del Hospital Universitario de Maracaibo, así como por el Comité de Bioética de la misma Institución.

Asimismo, se recolectó información y se vació en una ficha de registro, los datos de: identificación, fecha de ingreso y egreso. Las características epidemiológicas: edad, género. Se realizó examen físico completo incluyendo la determinación de signos vitales. Se valoró el estado nutricional mediante la búsqueda de los criterios clínicos. (edema en el dorso del pie y signo del pantalón flojo) y los datos antropométricos peso/edad P/E, talla/edad T/E y peso/talla P/T, de la Organización Mundial de la Salud (OMS)(8) para lo que se hicieron las mediciones del peso y talla, previa calibración de los instrumentos. Se registraron las manifestaciones clínicas relacionadas con el síndrome de realimentación tales como: debilidad, parestesias, calambres, convulsiones, disnea, confusión, coma, arritmias, parada cardíaca, distensión abdominal, temblores, tetania, náuseas, vómitos, diarrea, poliuria, deshidratación e hipotensión, tanto al ingreso como al día 7 de iniciada la realimentación.

Se obtuvieron muestras sanguíneas para la valoración de parámetros bioquímicos, determinando las concentraciones de fósforo, hemoglobina, hematocrito, creatinina y bilirrubina total y fraccionada al ingreso y luego de iniciada la alimentación al día 7 de evolución intrahospitalaria, Se tomó una muestra de 4cc de sangre por venopunción braquial, a todos los pacientes tanto con desnutrición grave como a los eutróficos, al momento de su ingreso y al séptimo día posterior a iniciarse la alimentación. La muestra

se distribuyó en 2 tubos BD Vacutainer®, uno sin aditivos y otro con anticoagulante Ácido etilen diamino tetra acético, colocando 2 cc en cada las muestras fueron llevadas al laboratorio clínico del Hospital Universitario de Maracaibo donde fueron procesadas. se centrifugaron para obtener el suero el cual se analizó en el equipo Olympus EU 400 para determinación de los parámetros bioquímicos El valor normal de fósforo para este laboratorio, fue de 2,5 – 4,5 mg/dl, de creatinina 0,5 – 1,5 mg/dl, de billirubina total de 0 – 1,2 mg/dl, de billirubina directa de 0 – 0,3 mg/dl, de billirubina indirecta 0,2 – 0,7 mg/dl, de hemoglobina de 12 – 14 gr/dl y hematocrito de 37 – 47%.

Alimentación suministrada a los pacientes del Grupo A durante su estancia intrahospitalaria

El tratamiento nutricional de los niños con desnutrición grave, se inicio precozmente, una vez que el niño fue hidratado y corregidos los desordenes electrolíticos, en los pacientes con diagnostico de diarreas o mejorado el trabajo respiratorio, en los pacientes ingresados con neumonía. La alimentación, se inicio con formula F-75, recomendada por la OMS para la realimentación del niño desnutrido grave en la fase de estabilización (1,8), la misma está preparada a base de leche, y cereales (75 kcal /100ml, y 0,9 gr de proteínas por 100 ml). La cantidad de fórmula que se le suministró a el niño fue calculada según su peso en kilos, por la siguiente fórmula: volumen fórmula por día = 100 ml x peso del niño (Kg), vigilándose de forma estricta la tolerancia a la misma y el consumo de la cantidad calculada según su peso. La fórmula se administró en doce (12) tomas cada 2 horas de día y de noche, los primeros 5 días y luego se cambio por formula F-100 (100 kcal/100 ml). La fórmula F-100 aporta 100 cal/100 ml y 2,9 gr de proteínas por 100 ml, (1,9). La misma se administró en doce (12) tomas cada 2 horas de día y de noche, El cálculo del volumen de la fórmula, fue hecho por la misma fórmula 100 ml x Kg de peso del niño, realizándose aumentos progresivos según la tolerancia del niño, se utilizó el siguiente esquema: 100 ml/Kg/día, 150 ml/Kg/día, como máximo. La fórmula se administró de día y de noche, acompañándose de alimentación complementaria en los niños más grande y tolerancia del niño. Los niños grandes recibieron también bandeja, con alimentos preparados por el Servicio de Nutrición Dietética de Hospital. Los niños con poco apetito, debilidad y/o estomatitis dolorosa se

alimentaron con sonda nasogástrica a goteo continuo (8). La sonda nasogástrica se utilizó por corto tiempo y se retiró tan pronto como fue posible.

Análisis estadístico

Los datos fueron almacenados y procesados con el SPSS versión 17 para Windows. Las variables cualitativas se analizaron mediante la estadística descriptiva usando frecuencias absolutas y relativas (%), se resumen en tablas de frecuencias y se representan en gráficos de sectores lineales o de barras. Medidas de tendencia central y dispersión se aplicaron para el análisis descriptivo de las variables cuantitativas. La asociación estadística se determinó mediante la prueba del Ji cuadrado χ^2 y/o el test Exacto de Fischer para las variables cualitativas, utilizando la t – Student como prueba de significancia, considerando el valor de $p < 0,05$ como estadísticamente significativo.

RESULTADOS

Se estudiaron prospectivamente 60 niños, divididos en 2 grupos: Grupo A: n= 30 niños desnutridos graves y Grupo B: n= 30, pacientes eutróficos ingresados en UCAIEPI perteneciente al Servicio Autónomo Hospital Universitario de Maracaibo, Estado Zulia, Venezuela durante el periodo de junio de 2010 a junio de 2011.

En cuanto a la edad, se identificó que en el grupo A 26/30 (87,0%) de los niños se encontraban entre las edades de 1 a 23 meses y 4/30 (13,0%) correspondieron al grupo de 24 a 59 meses, con una edad promedio de 8 ± 6 meses, la moda de 12 meses. En el grupo B se encontró que 18/30 (60,0%) de los niños correspondían al grupo etario de 1 a 23 meses y 12/30 (40,0%) al grupo de 24 a 59 meses. La edad media fue de 23 ± 20 meses, y la moda de 12 meses, encontrándose diferencias significativas para la edad de 1 a 23 meses en ambos grupos ($p < 0,005$). Tabla 1.

En cuanto al género se evidenció que en el grupo A 21/30 (70,0%) de los pacientes fueron masculinos y 9/30 (30,0%) fueron femeninos. En el grupo B 22/30 (73,3%) fueron masculinos y 8/30 (26,7%) fueron femeninos, siendo el género masculino estadísticamente significativo en los 2 grupos ($p = 0,003$). Figura 1.

En relación a los diagnósticos de ingreso en el grupo A estos fueron: diarrea aguda febril 16/30 (53,0%) de los niños, neumonía en 15/30 (50,0%)

TABLA 1: Distribución por grupos etarios

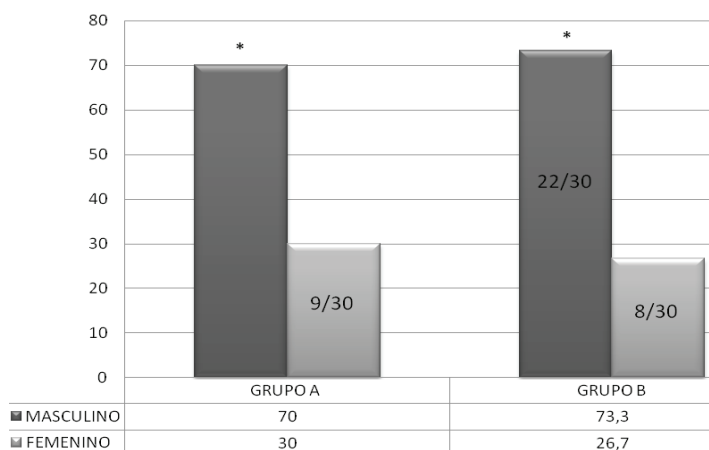
Grupos Etarios	Grupo A* (N=30)		Grupo B** (N=30)	
	N	%	N	%
1 – 23 meses	26/30	87,0	18/30	60,0
24 - 59 meses	4/30	13,0	12/30	40,0
Total	30	100,0%	30	100,0%

Fuente: Instrumento de recolección de datos.

* = 8 ± 6 meses. Moda: 12 meses.

** = 23 ± 20 meses. Moda: 12 meses.

▪p< 0,005



Fuente: Instrumento de recolección de datos.

* p= 0,003

FIGURA 1: Distribución según género.

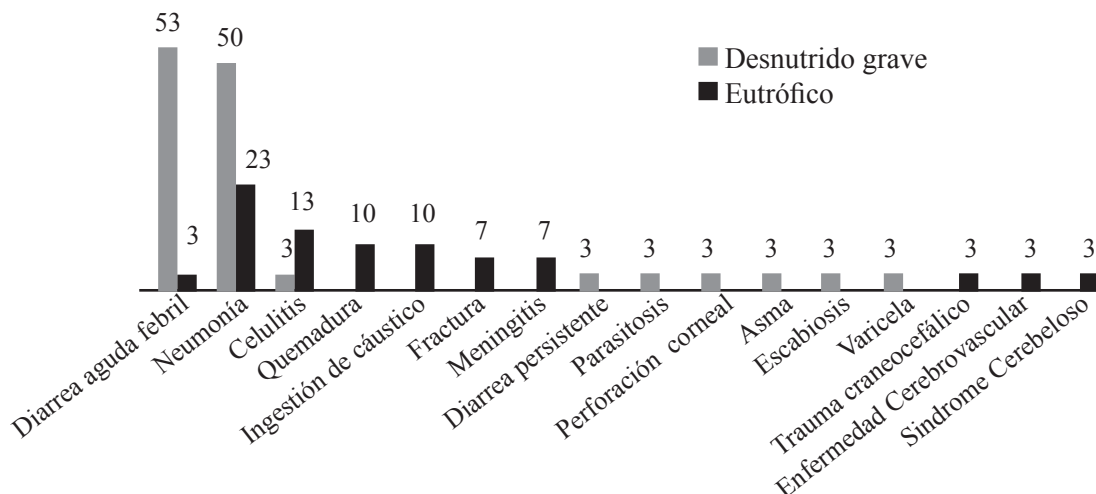


FIGURA 2: Distribución porcentual de las morbilidades al ingreso en pacientes del grupo A y grupo B.

de los casos. Celulitis abscedada, diarrea persistente, parasitosis, perforación corneal, asma, escabiosis y varicela se presentaron en 1/30 (3,0%) de los niños. En el grupo B los diagnósticos fueron la neumonía en 7/30 (23,0%), seguido de celulitis abscedada en 4/30 (13,0%), quemaduras e ingestión de cáustico en 3/30 (10,0%), fracturas y meningitis bacteriana en 2/30 (7,0%), la diarrea aguda febril, traumatismo craneoencefálico, enfermedad cerebro vascular y síndrome cerebeloso en un 1/30 (3,0%) de los pacientes. Figura 2.

Se registraron las manifestaciones clínicas relacionadas con el síndrome de realimentación tales como: debilidad, parestesias, calambres, convulsiones, disnea, confusión, coma, arritmias, distensión abdominal, temblores, tetania, náuseas, vómitos, diarrea, poliuria, deshidratación e hipotensión, etc. tanto al ingreso como al día 7 de iniciada la realimentación, sin observarse intensificación de las mismas. Hubo en el grupo A 3/30 (10%) de muertes por paro cardíaco, 2 al día 5 y 1 al día 6 luego de reiniciada la alimentación.

En cuanto al laboratorio, no se consiguieron alteraciones significativas en los valores séricos de hemoglobina, hematocrito, glóbulos blancos ni plaquetas. Así como tampoco en las pruebas de funcionalismo hepático, ni renal, tomados en los días 1 y 7, tanto en los pacientes del Grupo A, como

en los del Grupo B. Se registraron en el Grupo A las determinaciones de fósforo sérico, siendo valores de $3,17 \pm 0,98$ mg al ingreso y de $2,48 \pm 1,01$ mg/dl al día 7 de iniciada la realimentación, siendo estadísticamente significativos con $p=0,002$. En el Grupo B fueron de $4,55 \pm 1,13$ mg/dl al ingreso y $4,68 \pm 1,06$ mg/dl, no significativo estadísticamente $p=0,569$. Tabla 2.

El fósforo sérico promedio del ingreso en el grupo A fue de $3,17 \pm 0,98$ mg/dl y de $2,48 \pm 1,01$ mg/dl al día 7, con $p=0,002$, estadísticamente significativo el descenso de los valores de fósforo sérico respecto al

ingreso. El fósforo sérico promedio en el grupo B fue al ingreso de $4,55 \pm 1,13$ mg/dl y de $4,68 \pm 1,06$ mg/dl al día 7, $p=0,569$, estadísticamente no significativo en relación a los valores de ingreso. Los pacientes 1, 14, 19 y 29 presentaron cifras de fósforo sérico inferiores a 1,5 mg/dl. al día 7 después de la realimentación. Y los pacientes 13, 20, 23 fallecieron. Tabla 3 y Figura 2.

En relación a los niveles séricos de fósforo en el grupo A al momento del ingreso se observó que 6/30 (20,0%) de los niños tenían valores séricos menores a 2,5 mg/dl, 24/30 (80,0%) valores entre 2,5 - 4,5 mg/dl

TABLA 2: Resultados de laboratorio del grupo A y grupo B al ingreso y al día 7.

	Valores hallados Grupo A (n=30)			Valores hallados Grupo B (n=30)		
	Al ingreso	A los 7 días	P	Al ingreso	A los 7 días	p
Hemoglobina	$8,4 \pm 1,2$ gr/dL	$8,4 \pm 1,7$ gr/dL	0,974	$10,1 \pm 1,2$ gr/dL	$10,6 \pm 4,6$ gr/dL	0,603
Hematocrito	$27,9 \pm 7,7\%$	$28,5 \pm 5,8\%$	0,707	$33,7 \pm 4,2\%$	$31,8 \pm 3,7\%$	0,053
Creatinina	$0,5 \pm 0,4$ mg/dL	$0,3 \pm 0,2$ mg/dL	0,026	$0,3 \pm 0,1$ mg/dL	$0,4 \pm 0,3$ mg/dL	0,253
Bilirrubina Total	$0,4 \pm 0,2$ mg/dL	$0,3 \pm 0,3$ mg/dL	0,536	$0,3 \pm 0,2$ mg/dL	$0,3 \pm 0,1$ mg/dL	0,438
Bilirrubina Directa	$0,8 \pm 0,9$ mg/dL	$0,1 \pm 0,1$ mg/dL	0,270	$0,7 \pm 0,9$ mg/dL	$0,6 \pm 0,4$ mg/dL	0,489
Bilirrubina Indirecta	$0,3 \pm 0,2$ mg/dL	$0,2 \pm 0,3$ mg/dL*	0,084	$0,3 \pm 0,1$ mg/dL	$0,2 \pm 0,1$ mg/dL	0,770
Fósforo sérico	$3,1 \pm 0,9$ mg/dL	$2,4 \pm 1,1$ mg/dL	0,002	$4,5 \pm 1,1$ mg/dL	$4,6 \pm 1,6$ mg/dL	0,569

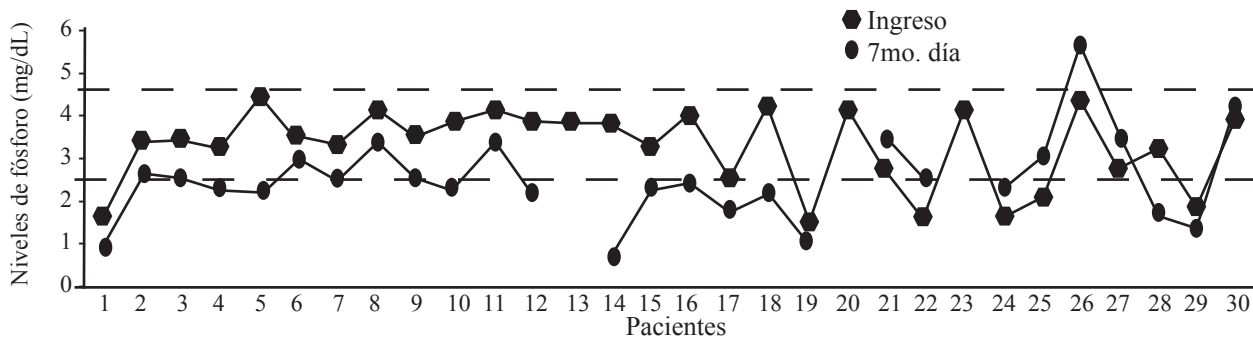
Fuente: Instrumento de recolección de datos

* $p=0,002$

TABLA 3: Niveles promedios de fósforo serico del grupo A y del grupo B al ingreso y al día 7.

	Valores hallados Grupo A (n=30)			Valores hallados Grupo B (n=30)		
	Al ingreso X (mg/dL)	A los 7 días X (mg/dL)	P	Al ingreso X (mg/dL)	A los 7 días X (mg/dL)	p
Fósforo sérico	$3,17 \pm 0,98$	$2,48 \pm 1,01$	0,002	$4,55 \pm 1,13$	$4,68 \pm 1,06$	0,569

Fuente: Instrumento de recolección de datos



Fuente: Instrumento de recolección de datos. Valor normal de fósforo sérico: 2,5 – 4,5 mg/dl. - - - -

FIGURA 3: Niveles de fósforo sérico en el grupo A al ingreso y al día 7.

TABLA 4: Niveles de fósforo sérico en el grupo A al ingreso y al día 7

Valores séricos de fósforo (mg/dL)	Ingreso		Día 7	
	N	%	N	%
< 2,5	6/30	20,0	16/27	59,25
2,5 – 4,5	24/30	80,0	10/27	37,03
> 4,5	0/30	0,0	01/27	3,70
TOTAL	30/30	100,0	27/27	100,0

Fuente: Instrumento de recolección de datos

X =3,17 ± 0,98 mg/dl al 1er día. X =2,48 ± 1,01 mg/dl al día 7.

p= 0,002. Valor normal de fósforo sérico: 2,5 – 4,5 mg/dl.

y 0/30 (0,0%) valores mayores a 4,5 mg/dl. Al día 7 se encontró que 16/27 (59,25%) tenían valores menores a 2,5 mg/dl, 10/27 (37,03%) valores entre 2,5 - 4,5 mg/dl y 01/27 (3,70%) valores mayores a 4,5 mg/dl. Tabla 4.

DISCUSION

El síndrome de realimentación es una alteración metabólica y del balance de los líquidos y de los electrolitos que se presenta en pacientes desnutridos graves que inician apoyo nutricional. (9-11).

En el presente estudio se pudo observar que en cuanto a la edad, que la mayor cantidad de pacientes fueron niños, cuyas edades estuvieron comprendidas entre 1 - 23 con una media de 8 + 6 meses para el grupo A en un 87% de los casos y en el grupo B igualmente la edad más frecuente fue de 1 a 23 meses con una media de 23 + 20 meses, en el 60% de los pacientes. En ambos grupos predominaron las edades de 1 a 23 meses, siendo estadísticamente significativo $p < 0,005$ en relación a otras edades. En relación al género, se pudo identificar similitudes en ambos grupos, predominando el género masculino en el grupo A 70% de los casos y en el grupo B 73,3%, también siendo en ambos grupos estadísticamente significativo el predominio de los niños sobre las niñas. Similares hallazgos fueron encontrados en la investigación de Papp Paz J y col (23).

En cuanto a las morbilidades encontradas al ingreso se evidenció que la diarrea aguda febril se presentó en 16/30 (53%) de los niños con desnutrición grave y la neumonía en 15/30 (50%) de los casos. La desnutrición asociada a diarrea condiciona un círculo vicioso en donde la desnutrición favorece la diarrea y ésta acentúa la desnutrición. En relación

a la neumonía, fue más frecuente en los pacientes desnutridos graves que en -eutróficos, similar a lo reportado por Gomilia A y col (21). Según Scrimshaw N y col (22). el estado nutricional afecta la función inmunitaria y ésta condiciona la respuesta del huésped frente a la infección.

En relación a las manifestaciones clínicas, en el 90% de los pacientes del grupo A, y en el 100% de los pacientes del grupo B, no hubo manifestaciones clínicas compatibles con SR, al ser evaluados diariamente después de iniciada la realimentación. Según Carrillo R y col (14) los pacientes con riesgo de síndrome de realimentación son aquellos con peso inferior al 80% del peso ideal, pérdida aguda de peso superior al 10% en los últimos 1–2 meses, pérdida de peso aguda o ayuno por más de 7 días. Ninguno de los niños incluidos en este estudio presento peso menor del 80% de su peso ideal, pero presentaban un importante déficit de peso con respecto a su talla y edad. Se destaca que hubo en el grupo A 3/30 (10%) de muertes por paro cardíaco, 2 niños al día 5 y 1 al día 6 luego de reiniciada la alimentación lo cual pudo haber estado relacionado con hipofosfatemia, como se describe en el SR, no siendo concluyente en el presente trabajo, debido a que no se pudieron procesar, las muestras a los fallecidos, y así relacionar, la muerte de estos niños, con posibles descensos del fósforo sérico. Las complicaciones cardiovasculares aparecen en la primera semana de reposición nutricional. El ayuno prolongado conduce a la atrofia y la depleción de ATP de las células miocárdicas, lo que resulta en una alteración de la contractilidad. En esta situación, la reposición de líquidos junto con la retención de sodio y agua secundaria a la realimentación con hidratos de carbono, supone una sobrecarga de volumen que puede dar lugar a insuficiencia cardíaca, además puede aparecer hipotensión, derrame pericárdico, shock, arritmias y muerte súbita como lo señala Fernández M y col (12).

Al realizar las comparaciones con los valores de hemoglobina y hematocrito encontrados, se evidenció que, al ingreso los todos los niños del grupo A, tenían anemia con un promedio de hemoglobina de $8,40 \pm 1,27$ gr/dL y del hematocrito $27,97 \pm 7,74$ % y al día 7 de iniciada la alimentación, el promedio de la hemoglobina fue de $8,41 \pm 1,78$ gr/dL y del hematocrito de $28,57 \pm 5,89$ %, siendo $p=0,974$ para la hemoglobina y $p=0,707$ para el hematocrito, estadísticamente no significativo. Igualmente en el grupo B, el promedio

de la hemoglobina y del hematocrito, no presentaron modificaciones importantes al 7mo día de iniciada la realimentación, en relación, a la cifras registradas al ingreso, con $p=0,603$ para la hemoglobina y con $p=0,053$ para el hematocrito, siendo estadísticamente no significativo para ambos parámetros. Resultados similares fueron reportados por De Abreu J y col (24), quienes reportaron anemia, tanto en desnutridos como eutróficos. Según Esper, CR (9) existe en el SR una disfunción de la médula ósea debido a hipofosfatemia. Se ha descrito anemia hemolítica, en esta entidad, atribuible a la disminución de ATP eritrocitaria y rigidez de membrana, lo que disminuye la vida media y promueve la hemólisis. Puede presentarse trombocitopenia y disminución de la actividad de granulocitos, lo que aumenta el riesgo de sepsis. Los niños del grupo A, objeto de estudio de esta investigación, no presentaron descenso significativo de los valores de hemoglobina y del hematocrito como se describe en el SR.

En relación a los valores del fósforo sérico en los pacientes desnutridos graves que conforman el grupo A, se les identificó al ingreso un valor promedio de $3,17 \pm 0,98$ mg/dL, y al día 7 de $2,48 \pm 1,01$ mg/dL, evidenciándose una reducción, de los valores de fosforo en estos pacientes en la segunda medición, siendo estadísticamente significativo con $p=0,002$.

El fósforo sérico promedio en el grupo B fue al ingreso de $4,55 \pm 1,13$ mg/dL y de $4,68 \pm 1,06$ mg/dL al día 7, $p=0,569$, estadísticamente no significativo. Hallazgos similares con los reportados por Llop y col (20). La hipofosfatemia es responsable de numerosas consecuencias perjudiciales, especialmente en su forma severa dificultando la recuperación clínica del paciente y se asocia con morbilidad y potencial mortalidad, puede desencadenar una reducción de la contractilidad del miocardio, arritmias y miocardiopatías debido a una reducción en el ATP intracelular disponible para el músculo cardíaco. En este estudio, a pesar de la disminución significativa de los niveles de fósforo en el grupo de pacientes desnutridos, solo 4/27, se demostró que llegaron a presentar valores de fosforo sérico, menores de 1,5 mg/dL; pero contrario a lo reportado en la literatura, estos pacientes tampoco presentaron manifestaciones clínicas evidentes.

En los pacientes desnutridos, las reservas totales de fosforo en el cuerpo están agotadas, y al reiniciarse la dieta, estos corren el riesgo de desarrollar

hipofosfatemia, ya que el suministro de nutrientes aumenta la captación celular de fósforo para la síntesis de compuestos fosforilados (adenosina trifosfato, adenosina trifosfato, 2,3-difosfoglicerato), necesarios para la formación de nuevos tejidos. Según Esper, CR (9) la hipofosfatemia es la manifestación clave del síndrome de realimentación y la principal causa de morbimortalidad. En pacientes con factores de riesgo como la desnutrición, el inicio de la alimentación, induce un cambio en el metabolismo de los lípidos y de las proteínas a carbohidratos. La glucosa se convierte en el principal sustrato energético, lo que promueve un aumento de la secreción de insulina. Este incremento promueve la captación celular de glucosa, magnesio, potasio y principalmente de fosfato, disminuyendo las concentraciones séricas de los mismos.

CONCLUSIÓN

Se puede concluir según los resultados de la presente investigación, que en los niños desnutridos graves sometidos a dieta, después de ayuno, presentaron disminución los valores de fosforo sérico, al día 7 después de la realimentación, sin presentarse manifestaciones clínicas de las descritas en el Síndrome de Realimentación y al igual que Gariballa S (25) se concluyo que el SR, es una afección potencialmente mortal, mal diagnosticada, pero tratable, y que se necesitan más investigaciones sobre el tema

REFERENCIAS

1. Meneses T, Rodríguez A, Quiroga M. Desnutrición mixta grave complicada: Actualización del tratamiento a propósito de un caso. *Revista Cuadernos*. 2008; 53(1): 60-67.
2. Álvarez J, Capdesuñer A, Suárez T, Pérez G, Duverger J. Escuela nutricional para madres de niños desnutridos menores de 5 años. *MEDISAN*. 2008; 12(3).
3. Onis M, Onyango A, Borghi E, Siyam A, Nishida C, Siekmann J. Development of a WHO growth references for Schoolaged children and adolescents. *Bulletin of the World Health Organization*. 2007; 85 (9). 660-667.
4. Waitzberg D, Ravacci G, Raslan M. Desnutrición Hospitalaria. *Nutr Hosp* 2011; 26(2). 254-264.
5. Martínez R, Fernández A. Desnutrición infantil en América Latina y el Caribe. *Boletín de la infancia*

- y adolescencia sobre el avance de los objetivos de desarrollo del Milenio. UNICEF; 2006; 7(2). 1-12.
6. Sánchez A, Barón M, Díaz N, Solano L, Velásquez E, López J.. Estado nutricional en niños preescolares que asisten a un jardín de infancia en Valencia, Venezuela. *Arch Lat Nutr.* 2007; 53(3). 248-254.
 7. Manejo Nutricional del desnutrido agudo grave. *Rev Bol Ped.* utilizado en el Hospital del Niño Dr Ovidio Ariaga Uria, La Paz, Bolivia. 2005; 44 (1) 4-10
 8. World Health Organization. Tratamiento de la malnutrición grave: manual para médicos y otros profesionales sanitarios superiores. Genova. 1999
 9. Esper Carrillo Raúl, Arriaga Escobar, Elizabeth, Flores García Edith, Ledezma Mora Jezer Iván. Síndrome de realimentación en el paciente críticamente enfermo. *Revista de Investigación Médica Sur.* 2008; 98 (2). 01 - 93
 10. Patel U, Sriram K. Acute respiratory failure due to refeeding syndrome and hypophosphatemia induced by hypocaloric enteral nutrition. *Nutrition;* 2009; 25(3). 364–367.
 11. Korbonits M, Blaine D, Elia M, Powell J.. Metabolic and hormonal changes during the refeeding period of prolonged fasting. *Eur J Endocrinol.* 2007; 157(2). 157–166.
 12. Fernández M, López M, Álvarez P, Arias J. Síndrome de realimentación. *Farm Hosp;* 2009; 33(4). 183-193.
 13. Sobotka L, Allison S, Stangaemail Z.. Basics in clinical nutrition: Water and electrolytes during nutritional support. *European e-Journal of Clinical Nutrition and Metabolism.* 2008 ;4(2) 59-61.
 14. Carrillo R, Escobar E, Flores L, Lezama, J. (2008). Síndrome de realimentación en el paciente críticamente enfermo. *Rev Invest Méd Sur;* 15(2). 93 – 99. (Citado 15 de Octubre 2011). (Serie de Internet). Disponible en: www.medigraphic.com.
 15. Skipper A. Refeeding Syndrome or Refeeding Hypophosphatemia: A Systematic Review of Cases. *Nutr Clin Pract.* 2012; 27(1). 34-40. (Citado 15 de Abril 2012). (Serie de Internet). Disponible en: <http://ncp.sagepub.com>.
 16. Miller S.. Death resulting from overzealous total parenteral nutrition: The refeeding syndrome revisited. *Nutr Clin Pract.* 2008; (2)23. 166 - 171.
 17. Morison G.. *Medical Nutrition and Disease: A Case-Based Approach Malnutrition and refeeding syndrome in children.* 4ta Edición. Philadelphia, USA. Wiley-Blackwell. (2009)
 18. Stanga Z, Brunner A, Leuenberger M, Grimble R, Shenkin A, Allison S, Lobo D. (2007). Nutrition in clinical practice—the refeeding syndrome: illustrative cases and guidelines for prevention and treatment. *Eur J Clin Nutr.* (2009) 62. 687-694.
 19. Bindels A, Kuiper M, Roos A, Spronk P, Schultz M. Treatment of hypophosphatemia in the intensive care unit: a review. *Critical Care.* 2010; 14(4).147-154.
 20. Llop J, Comas D, Badia M, Saez A, Jódar R, Gomez J. Hipofosfatemia en nutrición parenteral: prevención y factores de riesgo asociados. *Nutr Hos.* 2004; 19. 362-366.
 21. Gomila A, De Grandis E, Visconti G, Montero S, Bertero M, Marietti G, Crespo D, Pico A, Bianchi M. (2009). Estado nutricional en niños internados en Salas de Cuidados Mínimos. Hospital de Niños de la Santísima Trinidad. *Arch. argent. Pediatr;* 107(1). 37-42. (Citado 15 de Octubre 2011). (Serie de Internet). Disponible en: <http://www.scielo.org.ar/pdf>.
 22. Scrimshaw N, Taylor C, Gordon J. (1968). Interactions of nutrition and infections. Geneva World Health Organization. 57. (Citado 15 de Octubre 2011). (Serie de Internet). Disponible en: <http://whqlibdoc.who.int/monograph/pdf>.
 23. Papp Paz J, Campos Cavada I. Hábitos y Conductas en la alimentación de lactantes menores hospitalizados por desnutrición Grave. *Arch Venez Puer Ped.* 2010; 73(2). 0909– 17.
 24. De Abreu J, Borno S, Montilla M. Anemia y deficiencia de vitamina A en niños evaluados en un centro de atención nutricional de Caracas. *Arch Latinoamer Nutr.* 2005; 55(3).226-234.
 25. Gariballa, S.. Refeeding syndrome: A potentially fatal condition but remains underdiagnosed and undertreated. *Nutrition.*2008; 24(6). 604–606.

Recibido: 24-02-2015

Aceptado: 12-10-2015

Calidad de vida relacionada con la salud y obesidad en trabajadores de manufacturas en Jalisco, México.

José G. Salazar-Estrada, Alma Gabriela Martínez Moreno, Teresa Margarita Torres López, Carolina Aranda Beltrán, Antonio López-Espinoza.

Centro Universitario de los Valles, Universidad de Guadalajara, Jalisco, México.
Centro Universitario del Sur (CUSur), Universidad de Guadalajara, Jalisco, México.
Centro Universitario de Ciencias de la Salud, Universidad de Guadalajara, México.

RESUMEN. Poco se sabe sobre el impacto del sobrepeso y la obesidad en la calidad de vida (CV), casi siempre se asocia a enfermedades crónicas. El propósito del presente estudio fue evaluar los patrones de calidad de vida relacionada con la salud (CVRS) y algunos comportamientos de salud en relación con el índice de masa corporal (IMC), en una muestra de trabajadores de la industria manufacturera en Jalisco, México, que no contaban con alguna enfermedad manifiesta. Se utilizó un diseño transversal con una muestra de 392 trabajadores de la industria manufacturera, 200 (51%) proceden de industrias pequeñas, 118 (30%) de la industria mediana y 74 (19%) de la industria grande. De los 392 trabajadores encuestados, la mayoría era mujer (65.1%), soltera (72%), en su mayor parte trabajadoras de producción (91%); el decremento de la actividad física, la disminución de los componentes mentales del SF-36 y el incremento de la percepción de problemas de salud se ven relacionados con el incremento IMC, en ambos sexos, con una asociación lineal significativa en el deterioro de la función física y la percepción de salud en mujeres en contraste con los hombres. En conclusión, existen comportamientos en salud, así como un deterioro físico e incremento en la percepción de malestares de salud asociados al incremento de IMC en los trabajadores de la industria manufacturera, con diferencias significativas por género.

Palabras clave: Calidad de vida relacionada con la salud, sobrepeso, obesidad, trabajadores, manufactura.

SUMMARY. Health-related quality of life and obesity in manufacturing workers in Jalisco, Mexico. Little is known about the impact of overweight and obesity related quality of life (QoL), almost always associated with chronic diseases. The purpose of this study was to evaluate the patterns health related quality of life (HRQoL) and some health behaviors in relation to body mass index (BMI) in a sample of manufacturing workers who did not have any overt disease. A cross-sectional study was used with a sample of 392 manufacturing workers, 200 (51%) come from small industries, 118 (30%) of the industry median and 74 (19%) of the largest industry. Of the 392 workers surveyed, most were female (65,1%), single (72%), for the most part of production workers (91%); the decrease in physical activity, decreased mental components of the SF-36 and the increase in the perception of health problems are related to increased BMI for both gender, with a significant linear association in the impaired function and perceived physical health in women told the men. Scores on the mental components of the SF-36 did not differ by BMI categories in both sexes. In conclusion, there are health behaviors and physical deterioration and increase in the perception of health ailments associated to increased BMI on workers in the manufacturing industry, with significant differences by gender.

Key words: Health-related quality of life, overweight, obesity, workers, manufacturing.

INTRODUCCIÓN

La Organización Internacional del Trabajo (OIT) ha planteado que cada ciudadano tiene derecho al trabajo saludable y seguro, y a un ambiente laboral que le permita vivir social y económicamente una vida productiva, la Salud Ocupacional debe velar porque estas condiciones se cumplan (1). A la luz de la industrialización global, la atención se ha centrado en

los factores ocupacionales y su influencia en la salud y el bienestar o calidad de vida de los trabajadores. Estudios previos han correlacionado estos factores con una amplia variedad de trastornos físicos y psicofisiológicos que alteran el bienestar humano y obstaculizan tanto la capacidad para llevar a cabo las responsabilidades en el trabajo como en la vida diaria(2).

Las organizaciones han tenido que trabajar en la prevención de los denominados accidentes laborales y las consecuencias negativas que pueden surgir en las industrias y en el bienestar del trabajador. Es pertinente abordar esta problemática, tomando como base los diferentes conceptos relacionados con la búsqueda de la seguridad y el bienestar de los trabajadores, con el objetivo de promover un estilo de vida saludable en su potencial humano, y prevenir la proliferación de los diferentes factores de riesgo biopsicosociales asociados a la productividad (3).

La obesidad es un importante problema de salud pública con elevada prevalencia en los países desarrollados (4), en el Estado de México, el incremento se da en todos los grupos poblacionales, con un 47.7% en hombres y mujeres 42.6% (5). La obesidad incrementa la mortalidad y disminuye la esperanza y la calidad de vida, especialmente en adultos jóvenes (6). Tener sobrepeso u obesidad se ha vuelto muy frecuente en todo el mundo en el siglo XXI. Esta epidemia representa un gran reto para la prevención de las enfermedades crónicas no transmisibles, en los países desarrollados y en vías de desarrollo (7). La obesidad está asociada con numerosas condiciones perjudiciales para la salud, como la diabetes tipo 2, la hipertensión, enfermedades del corazón, derrames cerebrales y ciertos tipos de cáncer (8). Si bien ha habido un mayor enfoque en los resultados adicionales, tales como el bienestar y el funcionamiento psicosocial, hay una relativa escasez de investigaciones sobre la calidad de vida relacionada con la salud (CVRS), y en concreto, la calidad de vida relacionada con el peso corporal. Estos resultados de salud son de interés creciente en relación al peso y al estilo de vida que la población presenta hoy en día y su contribución a su calidad de vida, ante el hecho del crecimiento de la población que tienen sobrepeso u obesidad.

Varios estudios han encontrado que la obesidad se asocia con una menor calidad de vida percibida. Se ha encontrado asociación entre el índice de masa corporal (IMC, kg/m^2) con las puntuaciones más bajas en los dominios físicos, sociales y emocionales de la CVRS (9). Además, los individuos con IMC más altos tienden a reportar puntuaciones más bajas en las medidas relacionadas con la calidad de vida

relacionada con la salud. La pérdida de peso también ha estado estrechamente vinculada a la mejora de la CVRS (10,11). Recientemente, la investigación se ha centrado en el cambio de comportamientos para modificar la calidad de vida, y varios estudios han sugerido que la actividad física puede ser un objetivo primario. Por lo menos una revisión sistemática con estudios transversales ha apoyado una fuerte asociación entre la actividad física y CVRS (12). Previo se ha demostrado que la actividad física y el IMC se asocian con la calidad de vida específica de la obesidad (11).

La literatura también sugiere que pueden existir diferencias de género para las asociaciones de peso y de calidad de vida. Las mujeres tienden a reportar más baja la calidad de vida relacionada con el peso y los efectos negativos de la obesidad sobre la CVRS son más pronunciados para las mujeres. Del mismo modo, los beneficios de un cambio de comportamiento en la CVRS puede ser más pronunciado para las mujeres: al menos un estudio ha demostrado que existe la asociación entre mayores niveles de actividad física y una mayor CVRS sólo para las mujeres (13). Diversos estudios también muestran que entre las personas sanas que nunca habían fumado, las estimaciones de riesgo de relación asociadas con un IMC 25,0 o más, fueron los más altos de muerte por enfermedades cardiovasculares (14). Para trabajadores de la industria manufacturera los estudios están más en relación a determinar condiciones sociales y laborales con la calidad de vida (15), en este sector productivo no existen estudios que examinen las diferencias de género asociadas al IMC y la actividad física con la calidad de vida relacionada con el peso.

Usando la encuesta breve de salud (SF-36), estudios han reportado alteración en el componente físico de la calidad relacionada con la salud (CVRS) en personas obesas en comparación con los individuos no obesos (16). Esto no es sorprendente ya que la obesidad se sabe que está asociada con una gama de comorbilidades médicas crónicas (17). Sin embargo, poco se sabe sobre el impacto del sobrepeso y la obesidad en la CVRS de las personas sin enfermedades crónicas. El propósito del presente estudio fue evaluar los patrones de CVRS y algunos comportamientos

de salud en relación con IMC, en una muestra de trabajadores de la industria manufacturera que no contaban con alguna enfermedad manifiesta.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se llevó a cabo un estudio transversal. La unidad de observación fue dirigida a trabajadores de la industria manufacturera en Jalisco, México, una muestra de trabajadores aleatorizada basada en el tamaño de la industria de tres parques industriales, considerando que la industria de la manufactura concentra el 20% del empleo en el Estado de Jalisco y se clasificó por su número de trabajadores: la micro con menos de 11 trabajadores; la pequeña, de 11 a 50 trabajadores; la mediana, hasta 250 trabajadores; y más de 250 se considera como grande (Tabla 1).

El estudio se realizó en 24 industrias de los tres parques industriales –seleccionadas sólo por su tamaño–, siendo 12 de pequeña escala, 7 medianas y 5 industrias consideradas industria grande. El tamaño de la muestra fue de 369 trabajadores más el 10% de tasa de no respuesta; al final se obtuvo un total de 392 trabajadores estudiados. Los instrumentos se aplicaron de acuerdo a una distribución proporcional por el tamaño de la industria: 200 (51%) proceden de industrias pequeñas, 118 (30%) de la industria mediana y 74 (19%) de la industria grande. El tamaño de la muestra se calculó con un 95% de nivel de confianza. La aplicación de medidas e instrumentos se realizó durante el período comprendido entre septiembre y octubre del 2013.

De los 392 trabajadores encuestados, la mayoría era mujer (65.8%), soltera (72%), en su mayor parte

trabajadoras del departamento de producción o de línea de montaje (91%); la edad media en las mujeres fue de 26 años en contraste con la edad promedio en los hombres que fue de 42 años.

Los sujetos completaron cuestionarios auto-administrados en la propia Industria con el permiso de autoridades, antes de la medición de peso y talla, identificando los factores sociodemográficos, situación laboral, nivel de actividad física, el consumo de tabaco y la calidad relacionada con la salud de la vida a través de instrumentos denominados SF-36 y EQ-5D (18).

El Índice de Masa Corporal (IMC) fue calculado como el peso (kg) dividido por el cuadrado de la altura (m²). Clasificación de IMC fue de la siguiente manera: peso normal IMC < 25.0 kg/m², sobrepeso IMC 25.0-29.9 kg/m², obesidad IMC 30.0-34.9 kg/m², muy obesos IMC > 35.0 kg/m²(19).

El instrumento del SF-36 incluye 36 preguntas que, una vez calificadas, generan ocho dimensiones diferentes sobre la calidad de vida relacionada con la salud, incluyendo funcionamiento físico, desempeño físico, desempeño emocional, dolor corporal, vitalidad, funcionamiento social, salud mental y percepción general de salud. Todas las dimensiones son calificadas en una escala que varía de 0 a 100, con el valor de 100 que representa el mejor estado posible de salud. A partir de estas dimensiones es posible estimar dos componentes de la calidad de vida relacionada con la salud, uno físico y otro mental. Se utilizó el cuestionario de SF-36 en español desarrollado por el grupo Hays, R.D., & Morales, L.S. y validado en la Región de Morelos, México (20).

TABLA 1. Distribución de la muestra de trabajadores por Industria manufacturera y ramo de actividad.

	Pequeña	Mediana	Grande	Total
Industrias manufacturera muestreadas	12	7	5	24
Alimentos, Bebidas y tabaco	6	4	2	12
Maquinaria y equipo	4	1	1	6
Química y plásticos	1	1	1	3
Textil, Vestido, Cuero	1	1	1	3
Muestreo Proporcional de Trabajadores	200	118	74	392
Total de Trabajadores en el Estado de Jalisco	100,899	58,623	38,330	197,852
Total de Empresas en el Estado de Jalisco	758	249	59	1,066

El EQ-5D comprende cinco dimensiones de la salud: movilidad, cuidado personal, actividades cotidianas, dolor / malestar y ansiedad / depresión. El nivel de un problema en cada dimensión puede ser reportado como "no", "moderado" y "problemas extremos". El EQ-5D también incluye una escala visual analógica (EVA), que registra la percepción del encuestado sobre el estado general de la salud en una escala de 0 (que indica el peor estado de salud imaginable) a 100 (lo que indica la mejor salud imaginable).

Los datos se presentan como los promedios y su desviación estándar (DS), o como frecuencias con los porcentajes. Se presentan los resultados más importantes con intervalos de confianza del 95%. Las comparaciones estadísticas entre los grupos en las características basales se realizaron mediante análisis de la varianza con un contraste adecuado o la prueba de Cochran-Armitage para la tendencia.

La significación estadística por linealidad a través de los grupos de SF-36 con sus dominios, se determinó por análisis de covarianza con un contraste adecuado. Los coeficientes de correlación se calcularon por el método de Pearson. El nivel alfa se fijó en 0,05 para todas las pruebas.

El protocolo del estudio y los formularios de consentimiento fueron revisados y aprobados por el comité de ética del Instituto de Investigación en Salud Ocupacional (IISO) y por el Centro de Investigación en Comportamiento Alimentario (CICAN) de la Universidad de Guadalajara y forma parte del programa Empresas libre de Adicciones (ELA) de la Fundación Social del Empresariado Jalisciense (FEJAL). Todos los participantes dieron su consentimiento informado por escrito para este estudio.

RESULTADOS

La muestra fue de 392 trabajadores (media de edad 34 ± 7 años, 66% mujeres y el 34% en hombres). De acuerdo con las categorías de IMC, 82 (18%) de ellos fueron clasificados como de peso normal ($IMC < 25.0 \text{ kg/m}^2$), 189 (48%) como un IMC de sobrepeso (25.0 a 29.9 kg/m^2) y 90 (23%) como obesos ($IMC 30.0$ - 34.9 kg/m^2) y 42 (11%) como muy obesos ($IMC \geq 35.0 \text{ kg/}$

m^2). El promedio de edad en las mujeres fue de 26 ± 6 años y de 42 ± 8 años en hombres, encontrando una asociación lineal, a través del coeficiente de correlación, en la mujer que vive con pareja o cuenta con hijos y una asociación lineal en ambos sexos con relación a contar con niveles de educación básica incompleta.

Las características y comportamientos de salud de los sujetos de acuerdo a las categorías de IMC se muestran en la Tabla 2. En ambos sexos, se encontró una asociación estadística lineal inversa entre el IMC y el dormir menos de 6 horas y una asociación lineal inversa el hacer ejercicio 5 veces o más a la semana y solo en las mujeres que hicieron ejercicio de 3 a 5 veces. Entre los hombres, se detectó la asociación estadística significativa entre el tabaquismo y pasar tiempo viendo la televisión con las categorías de IMC.

La Tabla 3 muestra las medias del SF-36 en cada una de las ocho dimensiones y para las dos medidas de resumen por categoría de IMC. Todos los componentes físicos de CVRS disminuyeron linealmente a medida que aumenta el IMC en las mujeres. En los hombres, la escala de funcionamiento físico se da una asociación lineal más pobre con el aumento del IMC. Las puntuaciones en los componentes mentales del SF-36 no difirieron por categorías de IMC en ambos sexos.

Las diferencias en la escala SF-36 fueron observadas en la función física, el rol físico, dolor corporal y salud general en las mujeres en cambio en los hombres solo en la función física. En las mujeres, el índice EQ-5D y las puntuaciones EQ-EVA disminuyeron linealmente con el aumento del IMC. En los hombres, no hubo una relación lineal entre el EQ-5D y las categorías de IMC sin embargo si presentaron puntajes más bajos en los IMC con los obesos y muy obesos.

La Tabla 4 muestra los porcentajes de problemas moderados o extremos de cada una de la EQ-5D dimensiones de la salud y las categorías de IMC reportado por los trabajadores. Los sujetos con sobrepeso y obesidad presentaron índices más altos de dificultades de movilidad de dolor / malestar en ambos sexos y de ansiedad / depresión en las mujeres.

TABLA 2. Características demográficas y conductas de salud en las (a) mujeres (n = 258) (b) y en hombres (n = 134) todos trabajadores de la industria manufacturera.

	Total	Normal IMC ≤25.0 N= 72	Sobrepeso IMC 25.0–29.9 N= 188	Obeso IMC 30.0–34.9 N= 90	Muy obeso IMC ≥ 35.0 N= 42	Valor de p
(a) Mujeres						
Edad (años), media (DS)	26 (6.1)	25 (4)	27(4)	22 (5)	25 (2)	0.58
Vivir con pareja / hijos, f (%)	194	23 (11.9)	129 (66.0)	35 (18.0)	7 (3.6)	0.04 *
Educación						
(básica incompleta) f (%)	118	33	38	35	12	0.011*
Dormir (< 6 hrs)	164	36	43	45	40	0.08*
Bebida (regularmente), f (%)	27	4	8	9	6	0.41
Ejercicio > 30 min, (f (%))	20	10	5	4	1	<0.001**
Todos los días	56	25	25	5	1	0.01*
A veces	182	43	47	51	41	0.81
Horas frente a TV (h/día), media (DE)	2.0 (1.2)	1.5 (1)	2.0 (1.2)	2.5 (2)	2.5 (2)	0.088
(b) Hombres						
Edad (años), media (DS)	42 (8)	37 (6)	44 (7)	42 (8)	43 (8)	0.24
Vivir con pareja / hijos, f (%)	113 (3.6)	32	40	30	11	0.68
Educación						
(básica incompleta) f (%)	72	15	21	13	23	0.023*
Dormir (< 6 hrs)	86	20	27	18	21	0.07
Bebida (regularmente), f (%)	24	4	10	6	4	<0.001**
Ejercicio, > 30 min f (%)	11	6	3	1	0	<0.001**
Todos los días	70	20	25	20	5	0.066
A veces	53	10	8	15	25	< 0.001
Ninguno						
Horas frente a TV (h/día), media (DE)	3.5 (2.0)	3 (1.5)	3.5 (1.5)	4.5 (2)	4 (2)	0.01*

* P= <0.05 ** P= =.001

TABLA 3. Calidad de vida relacionada con la salud de acuerdo a las dimensiones del SF-36 y del EQ-5D por índice de masa corporal (IMC) como categoría.

	Normal IMC \leq 25.0 N= 72	Sobrepeso IMC 25.0–29.9 N= 188	Obeso IMC 30.0–34.9 N= 90	Muy obeso IMC \geq 35.0 N= 42	Valor de p
Mujeres					
SF-36, promedio (DS)					
Función física	86.4 (13.6)	80.1 (22.2)	72.6 (26.4)	70.6 (31.4)	<0.001**
Rol físico	75.5 (33.1)	72.0 (33.4)	66.9 (33.7)	60.8 (28.9)	0.009*
Dolor corporal	75.4 (23.8)	67.5 (31.3)	65.7 (18.9)	64.4 (25.9)	<0.001**
Salud general	65.1 (14.1)	65.2 (18.1)	54.1 (15.3)	55.3 (19.8)	<0.001**
Vitalidad	67.6 (23.9)	68,1 (13.9)	66.1 (25.8)	61.9 (33.0)	0.42
Función social	87.9 (19.8)	87.5 (28.1)	83.9 (18.9)	84.9(26.2)	0.80
Rol emocional	79.3 (29.0)	81.5 (33.5)	80.4 (35.0)	83.3 (35.4)	0.49
Salud mental	75.6 (18.3)	78.5 (14.4)	75.0 (16.9)	76.6 (16.2)	0.76
EQ-5D, media (DS)	0.82 (0.14)	0.80 (0.17)	0.75 (0.19)	0.76 (0.13)	0.0059*
EQ-EVA, media (DS)	80 (16)	77 (15)	75 (18)	70 (13)	<0.001**
Hombres					
SF-36, promedio (DS)					
Función física	87.5 (14.2)	85.6 (15.3)	83.9 (17.8)	74.9 (24.2)	0.002*
Rol físico	83.2 (21.0)	78.6 (28.9)	80.9 (33.2)	82.1 (25.0)	0.59
Dolor corporal	72.2 (23.2)	71.6 (20.1)	70.2 (28.9)	69.0 (32.3)	0.59
Salud general	72.6 (15.3)	62.9 (18.9)	60.2 (19.9)	58.3 (18.6)	0.16
Vitalidad	61.6 (12.2)	72.4 (16.9)	68.4 (24.7)	71.2 (19.5)	0.86
Función social	85.7 (14.1)	89.8 (13.8)	88.0 (18.3)	88.9 (23.6)	0.61
Rol emocional	84.0 (25.1)	85.3 (31.6)	86.4 (31.2)	83.0 (30.3)	0.81
Salud mental	74.0 (16.7)	78.6 (16.4)	78.5 (18.7)	80,4 (17.1)	0.19
EQ-5D, media (DS)	0.84 (0.14)	0.83 (0.13)	0.80 (0.16)	0.79 (0.16)	0.082
EQ-EVA, media (DS)	79 (14)	80 (15)	76 (14)	67 (18)	0.12

* P=0.05 ** P=0.001

TABLA 4. Porcentaje de los trabajadores que informaron de un problema con relación a las dimensiones del EQ-5D.

	Normal IMC \leq 25.0 N= 72	Sobrepeso IMC 25.0–29.9 N= 188	Obeso IMC 30.0–34.9 N= 90	Muy obeso IMC \geq 35.0 N= 42
Mujeres				
Movilidad	15	25	45	45
Cuidado personal	0	0	2	5
Actividades cotidianas	5	8	12	15
Dolor /molestar	5	22	27	35
Ansiedad /Depresión	15	15	25	35
Hombres				
Movilidad	10	15	25	56
Cuidado personal	0	2	3	6
Actividades cotidianas	0	5	10	10
Dolor /molestar	5	20	22	25
Ansiedad /Depresión	10	8	14	10

* P=0.05 ** P=0.001

DISCUSIÓN

Un interés de este estudio es conocer el impacto de las variables calidad de vida y patrones de comportamiento de la salud sobre el sobrepeso y la obesidad a través de su relación con el índice de masa corporal en los trabajadores de manufactura, identificados como sujetos sin enfermedad manifiesta.

Es importante aclarar que por el tipo de estudio utilizado –transversal- no es posible determinar si los patrones de conducta de salud son anteriores o posteriores a la obesidad. Con base a esto, se encontró que el 82% de los participantes tienen sobrepeso y obesidad. Dato que permitió relacionar la información obtenida de los cuestionarios con este dato.

Dormir menos de seis horas presenta una relación lineal al índice de masa corporal en ambos sexos. Estos resultados coinciden con los reportados en otras investigaciones en las que se demuestra una relación entre el tipo de profesión, IMC y calidad del sueño (21). Al parecer, la relación entre las actividades laborales y horarios de alimentación se vinculan directamente con el tipo de profesión. Por lo anterior, resulta de interés seguir evaluando la relación entre estas variables como directriz para mejorar la calidad de vida.

Otro hallazgo relevante se relaciona con la actividad: los sujetos obesos y muy obesos reportaron ser menos propensos a participar en actividades vigorosas. Probablemente, el estilo de vida más sedentario de los participantes obesos puede estar relacionado con problemas de movilidad. Los resultados del EQ-5D señalan que el deterioro fue más evidente en la dimensión de movilidad en donde el 56% de los hombres y el 45 % de las mujeres de la categoría muy obeso presentan molestias. Tanto en las mujeres como en los hombres, se presenta una relación porcentual lineal de molestias principalmente en movilidad, dolor / malestar y un énfasis en las mujeres en la dimensión de ansiedad/ depresión en contraste con los hombres de acuerdo a las categorías del índice de masa corporal.

Un dato importante a señalar es que la diferencia de edad entre hombre y mujeres es marcada: los hombres tienen un promedio de edad de 15 años mayor que el de las mujeres. De igual forma, tener una educación básica incompleta en ambos sexos está relacionada con el IMC, ya en México se ha reportado

una relación con el riesgo de sobrepeso y una escolaridad baja (22), no así el tiempo laborando en la industria. Sin embargo la CVRS de las dimensiones relacionadas con lo físico en los hombres muy similar a los estudio de Jia&Lubetkin (23), en donde el componente físico de la CVRS se deteriora cuando su peso corporal aumenta por encima del rango normal. En cambio, los aspectos mentales no difieren con relación al índice de masa corporal, los cambios en el componente mental no son significativos siendo muy parecidos independiente del IMC. Según Doll et al. (24), los sujetos obesos presentan un deterioro mental cuando va acompañado de enfermedades crónicas. Las calificaciones más bajas se presentan en la dimensión de salud y de vitalidad para ambos sexos con una relación lineal con base a las categorías de IMC pero sin significancia estadística. Con un promedio de calificación en el rol emocional y en la salud mental más bajo en las mujeres que en los hombres, al parecer mejor autoevaluado estos últimos pero sin ninguna relación lineal con el IMC.

Sin embargo, la diferencia de género fue clara en la relación entre el peso corporal y el estado de salud física al reducir linealmente todos los componentes físicos del SF-36, con una marcada diferencia de asociación estadística significativa en todos los componentes la salud física (función física, rol físico, dolor corporal y salud general) en las mujeres, en comparación con los hombres que solo se identificó asociación con el componente físico.

Ambos instrumentos presentan deterioro de la CVRS asociada al IMC en aspectos similares, los instrumentos son sensibles a los cambios de igual forma, sin embargo la cantidad de ítems hace más sencillo la aplicación del EQ-5D.

La naturaleza del diseño transversal de nuestro estudio no nos permite sacar conclusiones al respecto de una relación causal entre la obesidad y la CVRS, tampoco es posible determinar si estos patrones de conducta de salud son anterior a la obesidad o cambiado después del aumento excesivo de peso. Sin embargo, esta situación da pie a justificar la realización de estudios longitudinales que evalúen las variables estudiadas en diversas poblaciones. Los puntos fuertes de nuestro estudio se centran en la población de trabajadores que representan al trabajador común de la industria manufacturera en el Estado de Jalisco, México. Esta misma población

ha sido parte de un protocolo completo y con un programa multidisciplinario de intervención (15). Los datos fueron extraídos de varias entrevistas y de la aplicación de los instrumentos de CVRS antes de una intervención con el objetivo de mejorar el bienestar de los trabajadores.

CONCLUSIONES

Existe un deterioro físico como CVRS, pero no mental en sujetos aparentemente sanos y que el problema de sobrepeso está más ligado al concepto de autoestima con relación al funcionamiento físico y de movilidad por lo que probablemente no le ponga interés en bajar de peso mientras no lo asocie con la CVRS mental, un aspecto relevante es la existencia de una relación significativa lineal de la poca educación con el IMC, tal vez eso influya o se relacione con la motivación para que el trabajador realice actividades o lleve estrategias de mejora en hábitos alimentarios y de comportamiento. Los datos de este estudio fundamentan la importancia de incorporar en las empresas e industrias programas de calidad de vida laboral y de salud, sistemas informativos y educativos por los comités de capacitación, o como dice Navarro, et al., (25), se necesitan diseñar intervenciones dirigidas a problemas como la obesidad y sus consecuencias por la existencia de mecanismos conductuales relacionado con la ingesta de alimentos comunes por los adultos, lo cual puede propiciar trabajadores más saludables con climas organizacionales positivos y orientados a los mismos trabajadores y que se vean reflejados en su estabilidad laboral, su calidad de vida, su salud y su bienestar en general, comprometidos con el objetivo de toda organización productiva. Se buscará mejoras con la implementación de un programa de bienestar en los trabajadores que de manera directa mejore su CVRS física y de manera indirecta su relación con el trabajo en sí.

AGRADECIMIENTO

Se agradece el apoyo otorgado por el Centro de Investigación en Comportamiento Alimentario y Nutrición (CICAN), del Centro Universitario del Sur (CUSur) de la Universidad de Guadalajara (U. deG.), en especial a su Director el Dr. Antonio López Espinosa. Al Centro Universitario de los Valles (CUValles) y a la Fundación Social del Empresariado

Jalisciense (FEJAL), por el apoyo y las facilidades otorgadas para llevar a cabo esta investigación.

REFERENCIAS

1. Organización Internacional del Trabajo. Actividades normativas de la OIT en el ámbito de la seguridad y la salud en el trabajo: estudio detallado para la discusión con miras a la elaboración de un plan de acción sobre dichas actividades. 91ª. Conferencia Internacional del Trabajo. Suiza. 2003.
2. Moreno JB. Factores y riesgos laborales psicosociales: conceptualización, historia y cambios actuales. *Medicina y Seguridad del trabajo*, 2011, vol. 57, p. 4-19.
3. Rentarí V, Fernández O, Tenjo M, Uribe R. Identificación de factores psicosociales de riesgo en una empresa de producción. *Diversitas* 1999; 5(1): 161-171.
4. Murillo AZ, Esteban BM. Obesidad, factor de riesgo cardiovascular. *Hipertensión y riesgo vascular*, 2005, vol.22, no1, 32-36.
5. Instituto de Salud del Estado de México (2010). Acuerdo Nacional para la Salud Alimentaria, Estrategia contra el sobrepeso y la obesidad. Recuperado 22 de enero de 2014 de: http://salud.edomex.gob.mx/html/acuerdo_saludalimentaria.htm.
6. Ontiveros D, Orera CM, Jiménez-Millan A, Moreno EB. Mecanismos hereditarios de la obesidad: obesidad poligénica. *Rev Esp Obes*. 2004; 2:279-86.
7. James P. T, Rigby N, Leach R. The obesity epidemic, metabolic syndrome and future prevention strategies. *European Journal of Cardiovascular Prevention and Rehabilitation*, 2004; 11, 3-8.
8. U.S. Centers for Disease Control and Prevention. Overweight and Obesity: Health Consequences (2011); <http://www.cdc.gov/obesity/causes/health.html>. Accessed August 22 2011.
9. Cameron AJ, Magliano DJ, Dunstan, DW, Zimmet PZ, Hesketh K, Peeters A, Shaw JE. A bi-directional relationship between obesity and health-related quality of life: evidence from the longitudinal AusDiab study. *Int J Obes*, 2012, vol. 36, no 2, p. 295-303. doi: 10.1038/ijo.2011.103.
10. Cash SW, Beresford SA, Henderson JA, McTiernan A, Xiao L, Wang CY, et al. Dietary and physical activity behaviours related to obesity-specific quality of life and work productivity: Baseline results from a worksite trial. *Br J Nut*. 2012; 108 (6), 1134-1142. doi: 10.1017/S0007114511006258.
11. Kolotkin RL, Crosby RD, Williams GR, Hartley GG, Nicol S. The relationship between health-related quality of life and weight loss. *Obesity Research*.

- 2001; 9(9), 564–571. doi: 10.1038/oby.2001.73.
12. Bize R, Johnson JA, Plotnikoff RC. "Physical activity level and health-related quality of life in the general adult population: a systematic review". *Prevmed*. 2007; 45.6. 401-415.
 13. Patrick DL, Bushnell DM, Rothman, M. Performance of two self-report measures for evaluating obesity and weight loss. *ObesRes*. 2004; 12(1), 48–57. doi: 10.1038/oby.2004.8.
 14. De Gonzales, Hartge P, Cerhan JR, Flint AJ, Hannan L, MacInnis RJ, et al. Body mass index and mortality among 1,46 million white adults. *N Engl J Med*. 2011; 363 (23): 2211–2219. doi: 10.1056/NEJMoa1000367.
 15. Salazar EJ, Aranda BC, Pando M, Ruvalcaba. R. La percepción del trabajador de la industria manufacturera con relación a su bienestar y el sentido de coherencia. *Salud Uninorte*. 2014; 30(1):10-22.
 16. Wiczinski E, Döring A, John J, Von Lengerke T. Obesity and health related quality of life: does social support moderate existing associations? *Br J Health Psychol*. 2009; 14: 717–734. doi: 10.1348/135910708X401867
 17. Malnick SD, Knoble H. The medical complications of obesity. *QJM*. 2006; 99 (9): 565–579.
 18. Duran-Arenas L, Gallegos-Carrillo K. Salinas-Escudero G. Martínez-Salgado H. Hacia una base normativa mexicana en la medición de calidad de vida relacionada con la salud, mediante el Formato Corto 36. *Salud Publica Mex*. 2004, 46(4): 306-315
 19. World Health Organization. "Obesity and Overweight. Fact Sheet No. 311. September 2006." Online document at: www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/index.html Accessed September 13 (2010).
 20. Hays RD, Morales LS. The SF-36 measure of health related quality of life. *Ann Med*. 2001; 33 (5): 350-357.
 21. Escobar, C., González, E., Velasco, M., Salgado, R., Ángeles, M. La mala calidad de sueño es factor promotor de la obesidad. *Revista Mexicana de Trastornos Alimentarios*. 2013; 4: 132-142.
 22. Fernald LC. Socio-economic status and body mass index in low-income Mexican adults. *SocSciMed*. 2007; (10): 2030–2042.
 23. Jia H, Lubetkin EI. The impact of obesity on health-related quality-of-life in the general adult US population. *J Public Health (Oxf)*. 2005; (2): 156–164.
 24. Doll HA, Petersen SE, Stewart-Brown SL. Obesity and physical and emotional well-being: associations between body mass index, chronic illness, and the physical and mental components of the SF-36 questionnaire. *Obes Res*. 2000; 8(2): 160–170.
 25. Navarro MM, Martínez M, López-Espinoza A, López-Uriarte P, Benavides G. Comparación en la ingesta de alimentos de adultos que residen en una zona rural y urbana de Jalisco, México. *Revista Mexicana de Trastornos Alimentarios*. 2014; 5: 11-19.

Recibido: 19-08-2015

Aceptado: 30-10-2015

The prevalence of metabolic syndrome among students with different levels of physical activity

Jerzy Saczuk, Agnieszka Wasiluk, Jan Czezelewski, Barbara Długolecka.

Academy of Physical Education in Warsaw, Department of Physical Education and Sport in Biala Podlaska, Poland.

SUMMARY: Civilisation changes helped to improve living conditions in societies but at the same time they posed numerous new threats to the health of a contemporary human. The aim of the work was to define differences in the prevalence of metabolic syndrome risk factors in male and female sports university students with different levels of physical activity. The study included 164 female and 174 male first-year students of the Department of Physical Education and Sport in Biala Podlaska. Body weight and height, circumference of waist, hips, arm and calf as well as elbow and knee breadth were measured. BMI and WHR were calculated. Fat tissue was assessed and the levels of glucose, lipid profile, pulse and blood pressure were taken. Moreover, physical activity and a diet of students were determined. Female and male students of physical education and sport demonstrated a higher level of daily physical activity, which was statistically significant compared to other students. However, different levels of physical activity did not influence their diet or the results of their biochemical and physiological tests. Health-threatening factors were noted in a significant number of the examined women and men.

Key words: Students, physical activity, body build, metabolic syndrome.

RESUMEN: La difusión del síndrome metabólico entre los estudiantes con diferentes grados de actividad física. Los cambios sociales han ayudado a mejorar las condiciones de vida de la comunidad, pero al mismo tiempo han causado la aparición de muchos riesgos para la salud del hombre, los cuales antes habían sido desconocidos. El propósito de este estudio es identificar las diferencias en la frecuencia de los factores causantes del síndrome metabólico, específicas para estudiantes de ambos sexos de una universidad de deporte, los cuales atienden a diferentes cantidades de clases que contienen actividad física. Se han examinado a 164 chicas y 174 chicos de primer curso de la universidad de deporte en Biala Podlaska. Han sido pesados, y su altura, cintura, caderas, brazos, piernas y el ancho y la base del brazo y la rodilla han sido medidas. Se ha calculado el tamaño del IMC y la RCC. Se ha estimado la cantidad de grasa corporal y se ha determinado el nivel de glucosa, perfil lipídico, la frecuencia cardíaca y la presión arterial. Se ha especificado la actividad física y la dieta de los estudiantes. Los estudiantes de educación física y deporte, en relación con los estudiantes de otras carreras, se caracterizan por un nivel significativamente más alto de la actividad física diaria. Por el contrario, los diferentes niveles de la actividad física no se reflejan en sus hábitos alimenticios, ni en los resultados de la investigación bioquímica y fisiológica. En una gran cantidad de mujeres y hombres encuestados se han observado factores de riesgo para la salud.

Palabras clave: Estudiantes, la actividad física, la constitución corporal, el síndrome metabólico.

INTRODUCTION

In many countries civilisation changes brought about a huge progress in science and technology, which influenced changes in the lifestyle of the whole societies. A considerable improvement in everyday life conditions posed numerous new threats to the health of a contemporary human. They may include, inter alia, metabolic syndrome defined as a complex of interrelated metabolic syndrome risk factors such as obesity (mainly abdominal obesity), increased glucose levels, hypertension, lipid disorders, etc. Consi-

derable increase in the prevalence of metabolic syndrome was noted in the United States. Mozumdar and Liguori (1) noted that this condition occurs in 34.3% of adults over 20 years old and the number increases with age. This type of research was also conducted in selected European countries (2). It proved that this problem concerns 2.3% to 19% of men and 7.3% to 28.4% of women in various age groups. Metabolic syndrome occurs not only in the countries well-developed economically but also in developing countries. In Poland such effects of civilisation changes were noted in 19.5% of men and 18.6% of women

(3). However, this problem regards not only adults but it is also more and more common among children and youth (4). The main causes of the metabolic syndrome, apart from genetic predispositions, include low physical activity, improper diet, increasing pace of life and stress connected with it. Simultaneously it was proved that regular physical activity makes it possible to lower the risk of metabolic syndrome considerably (5). It is estimated that in the world low physical activity accounts for 20% of cardiovascular diseases and 37% of cardiovascular mortality (6). In scientific literature there are also studies in which authors did not find correlation between the level of physical activity and the frequency of occurrence of metabolic syndrome factors (7,8). Therefore, it is interesting to check whether metabolic syndrome risk factors occur in students who practise sports with various intensity. Thus, the aim of the work was to define differences concerning the prevalence of metabolic syndrome risk factors in male and female sports university students with different levels of physical activity.

MATERIAL AND METHODS

In May 2012 the research was carried out on 164 female and 174 male first-year students of the Department of Physical Education and Sport in Biala Podlaska from such fields of study as physical education, sport, tourism and recreation, physiotherapy and cosmetology. The numbers of subjects divided according to the fields of study are shown in Table 1.

Height (Ht) and weight (Wt) were measured to the nearest 0.1 kg and 0.1 cm, respectively, without shoes and with light clothing. Body mass index [BMI = weight (kg) /height (m²)] was calculated. World Health Organization classifications were used to define BMI categories: underweight (<18.5 kg/

m²), normal (18.5-24.9 kg/m²), overweight (25.0-29.9 kg/m²), and obese (≥30 kg/m²). Waist circumference was measured using a steel measuring tape, with measurements made halfway between the lower border of the ribs, and the iliac crest in a horizontal plane. Hip circumference was measured at the widest point over the buttocks. Men with a waist circumference 94–101.9 cm and women with a waist circumference 80–87.9 cm were classified as overweight, whilst men with a waist circumference ≥102.0 cm and women with a waist circumference ≥88.0 cm were classified as obese. WHR was obtained by dividing the mean waist circumference by the mean hip-circumference. Men with a WHR 0.90–0.99 and women with a WHR 0.80–0.84 were classified as overweight, whilst men with a WHR ≥ 1.00 and women with a WHR ≥ 0.85 were classified as obese.

Fat tissue was estimated with bioelectrical impedance. The measurement was performed on the right side of the body using 800- A and 50-kHz alternating sinusoidal current and a standard tetrapolar technique (BIA 101 Impedance Analyzer, AKERN, Florence, Italy). BIA was performed under standardised conditions: a quiet environment, an ambient temperature of 22° C – 24° C and after resting in the supine position for 20 min. After the electrode sites were cleaned with isopropyl alcohol, electrode patches using a self-adhesive conducting gel (Kendal Care, Resting ECG Electrode, TYCO Healthcare Group LP, Mansfield, MA, USA) were attached. The electrodes were placed proximal to the metacarpal phalangeal joints in the middle of the dorsal side of the right hand, and just below the transverse (metatarsal) arch on the superior side of the right foot. The whole-body impedance vector components, resistance (R) and reactance (Xc), were measured at the same time. Fat mass and skeletal muscle mass were determined using BODYGRAM-Software (AKERN S.r.l. Bioresearch, Florence, Italy).

Venous blood (ca. 5 mL) was taken from an elbow vein in the morning after overnight fasting. The blood was taken from patients in a sitting position to EDTA collection tubes and then plasma was extracted by centrifugal separation (3000 x g for 10 mins in 4°C). Samples of plasma were frozen in the temperature of

TABLE 1. Numbers of the examined students according to the field of study and numbers of hours devoted to sport per week.

Field of study	Females	Males	Number of sports classes per week
Physical education	44	114	10
Sport	4	22	10
Physiotherapy	40	16	2
Tourism and Recreation	25	22	2
Cosmetology	51	-	2

-80°C until analysis. The levels of glucose and lipid elements in blood plasma were marked according to spectrophotometric method with the use of "Marcel Media Bio" spectrophotometer (Merzet Poland). It was marked in the temperature of 37 °C with the use of reagents from RANDOX (Crumlin, United Kingdom). LDL cholesterol level was marked with the Friedewald method resulting from the following formula: LDL cholesterol (mg/dL) = Tchol – TG/5 – HDL cholesterol. In order to mark total cholesterol level (TC) and triglycerides (TG) the CardioChek analyser from Polymer Technology Systems Inc. (USA) was used. In order to estimate the risk of arteriosclerotic changes the percentage of subjects (%) whose mean levels of TC and TG were higher from 190mg/dL and 150 mg/dL respectively was calculated.

Pulse and blood pressure were measured using an automatic sphygmomanometer OMRON (i-Q 142), in a seated position after the participant had rested for at least 5 min. After measurement of the circumference of the mid-upper arm, a cuff of suitable size was applied to the participant's exposed upper arm (the arm not used for blood collection), which was supported by the table at heart level. Participants were classified as hypertensive if they, had a mean systolic reading ≥ 140 mmHg or a mean diastolic reading ≥ 90 mmHg.

Physical activity was assessed with the use of Seven-Day Physical Activity Recall (SDPAR) questionnaire. In this work the authors used data concerning mean daily intensity and time devoted to physical activity connected with duties at the university (SDPAR5) and physical activity on the days with no classes (SDPAR2) as well as mean daily values from the whole week before the examination (SDPAR7) (9). Data concerning the diet were collected on the basis of three questionnaire interviews regarding the previous 24 hours before the interview. On the basis of the data mean daily energy intake was calculated in the computer programme DIETA 5.0 based on the national tables of food composition and nutritional values (10). The results were compared with the norms for Estimated Average Requirement (EAR) taking into account age, body weight and mean daily physical activity level (PAL) calculated as the quotient of total energy expenditure (TEE) and basal metabolic rate (BMR). Total energy expenditure in kcal/day was estimated with the use of the Seven-Day Physical Activity Recall (SDPAR) questionnaire, while basic metabolic rate (kcal/day) was calculated with the use

of the formula of FAO/WHO/UNU (11). In order to assess the adequacy of energy intake, the percentage of people (%) whose food portions did not cover the norms of Estimated Average Requirement (EAR) was calculated (12).

The research was conducted according to the guidelines included in Helsinki Declaration and was accepted by the Senate Ethics Commission at the University of Physical Education in Warsaw.

On the basis of the analysis of study curricula the cohort of females and males was divided into groups taking into account the number of sports classes per week. The first group (Group I) included male and female students from sport and physical education (10 hours of sports classes per week), while the second group (Group II) included male and female students from tourism and recreation, physiotherapy and female students from cosmetology (2 hours of sports classes per week).

The collected results were analysed statistically. In order to characterise the variables such descriptive statistics as sample size (n), arithmetic mean (M) and standard deviation (SD) were used. Differences between the selected groups concerning the analysed features were estimated with the use of Student's t-test for independent groups. Using the criteria of the World Health Organisation (WHO) (13) and the European Groups for the Study of Insulin Resistance (EGIR) (14), the quantity and percentage values of the prevalence of metabolic syndrome risk factors were defined. Statistical significance of differences between the frequency of occurrence of metabolic syndrome factors in both groups was calculated with the use of χ^2 test.

RESULTS

The collected material made it possible to note slight differences concerning calendar age between the examined female and male students of the Department of Physical Education and Sport in Biala Podlaska (Table 2 and 3). The calculated mean age of the females from Group I was 20.61 ± 0.88 years, while from group II – 20.56 ± 1.04 years. The youngest of the examined female students was 19.08 years old, while the oldest one was 25.71 years old. The mean age in the group of male students of physical education and sport was 20.92 ± 1.25 years, while among physiotherapy and tourism and recreation students it

TABLE 2. Characteristics of health factors of female students from the Department of Physical Education and Sport in Biala Podlaska.

	Group I		Group II		t-value
	M±SD	n (%)	M±SD	n (%)	
Age [years]	20.61±0.88		20.56±1.04		0.173
SDPAR5 [MET]	79.94±17.22		67.47±20.88		3.655*
SDPAR2 [MET]	60.24±18.71		52.89±15.47		2.598*
SDPAR7 [MET]	74.31±15.59		63.31±17.76		3.738*
Body height [cm]	164.33±5.51		166.70±6.15		2.312*
Body weight [kg]	61.39±9.29		59.07±9.43		1.437
Hips circumference [cm]	94.33±5.48		95.77±6.93		1.281
Waist circumference [cm]	68.95±6.17	0(0.0)	70.27±7.44	4(3.45)	1.083
WHR	0.73±0.04	3(6.25)	0.73±0.06	13(11.21)	0.001
BMI [kg/m ²]	22.70±2.43	7(14.58)	21.19±2.77	15(12.90)	3.282*
Fat tissue [%]	20.90±4.84	2(4.17)	21.90±5.34	25(21.55)	1.122
Energy intake [kcal]	1856.48±596.90	0(0.0)	1791.61±612.27	5(4.31)	0.622
Glucose [mg/dL]	64.55±6.82	0(0.0)	63.62±10.19	0(0.0)	0.581
Total cholesterol (mg/dL)	125.49±20.15	0(0.0)	131.78±24.51	1(0.86)	1.570
Triglycerides [mg/dL]	84.39±33.10	3(6.25)	98.40±46.93	16(13.79)	1.882
Systolic blood pressure [mmHg]	119.12±8.76	1(2.08)	121.44±12.59	7(6.03)	1.163
Diastolic blood pressure [mmHg]	72.37±7.84	1(2.08)	74.19±8.81	8(6.90)	1.244
Pulse [contractions /minute]	74.27±11.48	2 (4.17)	80.17±13.02	8(6.90)	2.734*

M - mean; SD-standard deviations; n - number of subjects; % - percent of subjects; t-value - the value of Student's t-test ; * statistically significant difference at the level of $p < 0.05$; Group I: physical education, sport (n 48), Group II: physiotherapy, tourism, cosmetology (n 116).

TABLE 3. Characteristics of health factors of male students from the Department of Physical Education and Sport in Biala Podlaska

	Group I		Group II		t-value
	M±SD	n (%)	M±SD	n (%)	
Age [years]	20.92±1.25		21.18±1.08		1.160
SDPAR5 [MET]	78.33±13.38		70.39±18.09		2.976*
SDPAR2 [MET]	56.03±16.33		52.51±16.79		1.168
SDPAR7 [MET]	71.96±15.71		65.29±11.92		2.833*
Body height [cm]	181.19±6.97		181.19±7.70		0.500
Body weight [kg]	77.73±10.39		77.73±11.05		0.003
Hips circumference [cm]	98.55±5.89		100.08±6.48		1.381
Waist circumference [cm]	78.68±6.33	2(1.47)	79.11±5.62	0 (0.0)	0.377
WHR	0.80±0.04	0 (0.0)	0.79±0.03	0 (0.0)	1.098
BMI [kg/m ²]	23.88±2.69	37(27.21)	23.62±2.74	8 (21.05)	0.527
Fat tissue [%]	13.77±4.17	12 (8.82)	16.34±6.41	8 (21.05)	2.953*
Energy intake [kcal]	2634.27±660.72	0 (0.0)	2626.86±746.78	2 (5.26)	0.061
Glucose [mg/dL]	65.24±9.06	0 (0.0)	65.87±10.77	0 (0.0)	0.365
Total cholesterol (mg/dL)	113.60±17.71	0 (0.0)	114.39±19.64	0 (0.0)	0.238
Triglycerides [mg/dL]	75.72±32.70	8 (5.88)	87.42±39.53	3 (7.89)	1.860
Systolic blood pressure [mmHg]	131.56±11.54	28 (20.59)	132.74±12.65	12 (31.58)	0.545
Diastolic blood pressure [mmHg]	71.04±9.01	7 (5.15)	73.58±8.17	3 (7.89)	1.568
Pulse [contractions /minute]	69.50±11.65	0 (0.0)	73.58±10.57	0 (0.0)	2.057*

M - mean; SD-standard deviations; n - number of subjects; % - percent of subjects; t-value - the value of Student's t-test ; * statistically significant difference at the level of $p < 0.05$; Group I: physical education, sport (n 136), Group II: physiotherapy, tourism (n 38)

was 21.18 ± 1.08 years. The age range of the examined males was between 18.69 and 25.11 years.

Female and male students of physical education and sport demonstrated a higher (statistically significant) level of daily physical activity calculated from the days on which they participated in sports classes at the university than students from other fields of study (females – by 12.47 MET, males – by 7.93 MET). The results calculated from all weekdays were also higher for them (females – by 11.01, males – by 6.67 MET). For the results concerning free days, statistically significant difference was noted only in female students (by 7.35 MET), while in male students it was at the level of only 3.52 MET. Higher physical activity was also reflected in the pulse values. The pulse was significantly lower in physically active females (by 5.91 contraction/minute) and males (by 4.08 contractions/minute) than in their less active counterparts.

A different level of physical activity was not reflected in the diet of students, which was assessed on the basis of daily energy intake. The difference between the analysed groups was not significant at the level of 64.87 kcal/day in females and 7.41 kcal/day in males.

While assessing somatic features, it was noted that females studying physical education and sport demonstrated a significantly lower body height (by 2.37 cm) and BMI (by 1.51 kg/m^2) compared to the female students from other fields of study. However, it should be noted that the latter difference was caused by the amount of active tissue, since the amount of fat tissue was insignificantly lower. This assumption was confirmed by the results of males since the differences between the groups concerning body height, weight and BMI were slight. However, the amount of fat tissue was significantly lower (2.57%) in more physically active students. For the remaining anthropometric factors the differences were slight, so while characterising the examined females and males, it might be concluded that the levels of somatic features and WHR were similar.

Moreover, no significant differences were noted between the values of biochemical and physiological examination results. Male students from sports fields of study demonstrated insignificantly lower levels of total cholesterol, triglycerides, systolic and diastolic blood pressure and glucose compared to their peers from other fields of study. However, in women reverse correlations were noted.

The presented analysis of results based on arithmetic means and standard deviations does not reveal how many subjects demonstrated referential values for the assessed health indices. Therefore, in the following part of the work, the number and percentage of subjects demonstrating each of the metabolic syndrome risk factors are presented with regard to referential values. The results of the whole population are described and the results for female students are presented in table 2, while for male students in table 3. Statistically significant difference at the level of $p < 0.05$ between the groups was noted only in the number of females with excessive fat tissue. Individual distribution of BMI values revealed that 22 females (13.41%) and 45 males (25.86%) demonstrated excessive body weight. However, it should be highlighted that among subjects with a high level of physical activity, high levels of body mass index may be caused by the amount of active tissue. Therefore, the analysis also included the amount of fat tissue whose values above 26% were noted in 25 female students (16.46%) and above 20% in 20 male students (11.49%) (15). Taking into consideration the value of WHR, it was noted that only in 16 female students (9.76%) there exists a higher risk of metabolic syndrome. The risk also increases in females with a waist circumference bigger than 88 cm, while in males – above 94 cm. Such values were noted in 4 female students (2.44%) and 2 male students (1.15%).

The analysis of daily energy intake taking into consideration age, body weight and mean daily level of physical activity revealed that 5 female students (4.31%) and 2 male students (1.15%) exceeded referential values in their diets. In turn, no considerable prevalence of increased biochemical blood parameters was noted. Irregularities regarded total cholesterol level ($n = 1 - 0.61\%$ of females) and triglycerides ($n = 19 - 11.59\%$ of females and $n = 11 - 6.32\%$ of males). In all the students from the Department of Physical Education and Sport in Biala Podlaska the level of glucose fell within the norm. An increased systolic blood pressure was noted in 8 females (4.88%) and 74 males (42.53%), while increased diastolic pressure was found in 9 females (5.49%) and 10 males (5.75%).

Taking into account referential values of WHO and EGIR (13,14), it must be concluded that metabolic syndrome factors were noted in 69 females (42.07%) and 63 males (36.21%) under observation, including 11 (22.92%) female students from the more physica-

TABLE 4. The number of students who demonstrated metabolic syndrome risk factors

Number of metabolic syndrome factors	Females			Males		
	Group I n (%)	Group II n (%)	χ^2	Group I n (%)	Group II n (%)	χ^2
1	8 (16.67)	43 (37.07)	4.024*	36 (26.47)	10 (26.32)	0.0
2	3 (6.25)	11(9.48)	0.409	7 (5.15)	4 (10.53)	1.121
3 and more	-	4 (3.45)		2 (1.47)	4 (10.53)	5.287*

n - number of subjects; % - percent of subjects; χ^2 - Chi-squared; * statistically significant difference at the level of $p < 0.05$

Females: Group I: physical education, sport (n 48), Group II: physiotherapy, tourism, cosmetology (n 116); Males: Group I: physical education, sport (n 136), Group II: physiotherapy, tourism (n 38)

lly active group and 58 (50.0 %) from the less active group (table 4). Among male students the numbers were 45 (33.09%) and 18 (47.37%), respectively. The occurrence of 2 and more metabolic syndrome factors was noted in 3 females (6.25%) and 9 males (6.62%) from group I and in 15 females (12.93%) and 8 males (20.6%) from group II. It should be highlighted that no significant differences concerning the frequency of occurrence of metabolic syndrome factors were noted between the analysed groups. The only exception was the amount of fat tissue of women, where significant differences were noted ($\chi^2 = 7.069$).

DISCUSSION

The correlations between body build and field of study described in literature indicate that compared to other fields of study, students of physical education demonstrate a higher level of somatic features and a higher level of physical activity, which was confirmed in our observations. They also have a high level of motor development and development factors, which is reflected in higher physical efficiency than in students from other fields of study (16). While interpreting this fact, the quoted authors focus on the significance of the selection factor in the university admittance process. Therefore, it might be assumed that the described differences in the development of somatic features should be considerable and the groups of physically active females and males will not include subjects with metabolic syndrome risk factors. However, these assumptions were not confirmed in this research. In the analysis of anthropometric factors significant differences were noted only with regard to BMI in females and to fat tissue in males. Significant differences concerning BMI in female students and similar levels of this index among males may have been caused by the amount of active tissue, and not

by overweight, which is confirmed by the results of research on fat tissue. Similar results were noted by Reuter et al. (17), who examined tissue composition in Brazilian students. However, it must be highlighted that due to a low number of candidates, the examined youth did not undergo any selection process while being admitted to university, which may have influenced the results. Moreover, Mleczko and Januszewski (18) highlighted the fact that currently studies at the University of Physical Education are taken up by individuals who are better developed as far as their basic somatic features are concerned rather than their motor abilities, which is compliant with the national secular trends (19). It is caused, inter alia, by a lower motor potential of upper-secondary school graduates who apply to this field of study. Therefore, it is understood that no significant differences between the analysed groups were noted with regard to mean WHR, diet and biochemical factors characteristic of metabolic syndrome. Only mean pulse shows better adaptation of the circulatory system to physical loads.

However, despite similarities between the analysed groups, individual results of females and males helped to recognise metabolic syndrome. The described research results revealed higher values of at least one factor than referential values and the number of subjects with a diagnosed metabolic syndrome. The increased risk of cardiovascular diseases noted in the students from Biala Podlaska is not a unique phenomenon in this age group, which was noted by de Freitas et al. (20) in his review of data from various countries of the world. However, it should be remembered that there are various opinions concerning the selection of metabolic syndrome risk factors. The research results available in literature are based on different criteria and risk factors. The most frequent ones are the recommendations by WHO (13), EGIR (14) etc.

Moreover, it might be assumed that differences concerning physical activity are caused by the curriculum, and not by one's own needs, since physical education and sport students have at least 10 didactic hours of physical education classes per week, while at the remaining fields of study only 2 hours of this type of classes are realised. Thus, it is understandable that there exist statistically significant differences in physical activity. During sports studies an increased number of practical classes does influence the level of somatic features. Thus, it might be assumed that clearer differences between the assessed groups of females and males can be noted among older students, since studying at the sports university creates habits of increased physical activity. It is a well-known fact that physical exercise may influence energy balance and tissue composition as well as widely understood health indices. Moreover, physical activity is a significant element of the strategy aimed at reducing waist circumference (and body weight at the same time), and it exerts a positive influence on the values of systolic blood pressure, triglycerides concentration and HDL fraction of cholesterol. The level of the aforementioned changes depends on the time devoted to physical exercise and on their intensity.

CONCLUSIONS

1. No significant differences concerning differences in the somatic build and the frequency of occurrence of metabolic syndrome factors between groups of female and male students with different levels of physical activity were noted.
2. The lack of differences between both groups may be caused by the present secular trends in the development of the youth in Poland, improper selection for university or a short period of declared physical activity.
3. Health risk factors were noted in a considerable number of the examined females and males, so they should be taken care of in order to prevent and treat metabolic syndrome complications.

ACKNOWLEDGEMENTS

The research material was collected within statutory activity of the University of Physical Education in Warsaw no. 172 financed by the Ministry of Science and Higher Education.

REFERENCES

4. Mozumdar A, Liguori G. Persistent Increase of Prevalence of Metabolic Syndrome Among U.S. Adults: NHANES III to NHANES 1999–2006. *Diabetes Care*. 2011; 34 (1): 216-219.
5. van Vliet-Ostapchouk JV, Nuotio ML, Slagter SN, Doiron D, Fischer K, Foco L, et. al. The prevalence of metabolic syndrome and metabolically healthy obesity in Europe: a collaborative analysis of ten large cohort studies. *BMC Endocr Disord*. 2014; 14: 9.
6. Wyrzykowski B, Zdrojewski T, Sygnowska E, Biela U, Drygas W, Tykarski A. Epidemiology of the metabolic syndrome in Poland. The results of the program WOBASZ [Epidemiologia zespołu metabolicznego w Polsce. Wyniki programu WOBASZ.] *Kardiologia Pol*. 2005, 63 (Supl.4): 1–4 .
7. Kolarzyk E, Janik A, Kwiatkowski J. Evaluation of the risk of metabolic syndrome among overweight and obese children. Part I. Anthropometric and biochemical factors of the risk of metabolic syndrome development. *Prob Hig Epidemiol*. 2011; 92 (4): 741-745.
8. Edwardson CL, Gorely T, Davies MJ, Gray LJ, Khunti K, Wilmot EG, et al. Association of Sedentary Behaviour with Metabolic Syndrome: A Meta-Analysis. *PLoS ONE*. 2012; 7 (4): 34916.
9. Levi F, Chatenoud L, Bertuccio P, Lucchini F, Negri E, La Vecchia C. Mortality from cardiovascular and cerebrovascular diseases in Europe and other areas of the world: an update. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil*. 2009; 16 (3): 333–350.
10. Farinha JB, Dos Santos DL, Bresciani G, Bard LF, de Mello F, Stefanello ST, et. al. Weight loss is not mandatory for exercise-induced effects on health indices in females with metabolic syndrome. *Biol Sport*. 2015; 32 (2):109-114.
11. Heshmat R, Shafiee G, Kelishadi R, Babaki AE, Motlagh ME, Arefirad T, et. al. Is the association of continuous metabolic syndrome risk score with body mass index independent of physical activity? The CASPIAN-III study. *Nutr Res Pract*. 2015; 9 (4): 404-410.
12. Seven-Day Physical Activity Recall. *Med Sci Sports Exerc*. 1997; 29 (supl. 6): 89-103.
13. Kunachowicz H, Przygoda B, Nadolna I, Iwanow K. Tabele składu i wartości odżywczej żywności. PZWL, Warszawa, 2005.
14. FAO/WHO/UNU (Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization/United Nations University) Human energy requirements, Report of a Joint 2021 AO/WHO/UNU Expert Consultation: Rome, 17-24 October 2001, FAO Food and Nutrition Technical Report Series, 2004.

15. Jarosz M. (red.) Normy żywienia dla ludności polskiej - nowelizacja. IŻŻ Warszawa, 2012.
16. Alberti KG, Zimmet PZ. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus: provisional report of WHO consultation. *Diabetes Med.* 1998; 15 (7): 539–553.
17. Balkau B, Charles MA. Comment of the provisional report from the WHO consultation. European Group for the Study of Insulin Resistance (EGIR). *Diabet Med.* 1999; 16 (5): 442–443.
18. Gallagher D, Heymsfield SB, Heo M, Jebb SA, Murgatroyd PR, Sakamoto Y. Healthy percentage body fat ranges: an approach for developing guidelines based on body mass index. *Am J Clin Nutr.* 2000; 72 (3): 694-701.
19. Wasiluk A, Saczuk J, Litwiniuk S. Selected parameters of body build of candidates for physical education studies in the Institute of Physical Education and Sports in Biała Podlaska. *Physical Education and Sport.* 2003; 2: 239 - 253.
20. Reuter C, Stein CE, Vargas DM, Bone mass and body composition in college students. *Rev Assoc Med Bras.* 2012; 58 (3): 328-334.
21. Mleczko E, Januszewski J. Long-term trends of changes in physical and motor development observed among cracovian students. *Kinesiology.* 2009; 46: 65-79.
22. Przewęda R, Dobosz J. Growth and physical fitness of Polish youths. University of Physical Education Editions, Warsaw. 2005.
23. de Freitas RW Jr, de Araújo MF, Marinho NB, de Vasconcelos HC, Lima AC, Pereira DC, et al. Prevalence of the metabolic syndrome and its individual components in Brazilian college students. *J Clin Nurs.* 2013; 22 (9-10): 1291-1298.

Recibido: 22-09-2015
Aceptado: 08-12-2015

Antimicrobial effect of ethanol extract of leaf neem (*Azadirachta indica* A. Juss) on *Listeria monocytogenes*

Luis Guillermo Ramírez Mérida, Alba Morón de Salim, Doris Reyes,
Ariana Rivero, Luz A. Sánchez, Luz K. Sánchez.

Facultad de Ciencias y Tecnología (FACYT). Instituto de Investigaciones en Nutrición (INVESNUT).
Universidad de Carabobo Sede Valencia, Venezuela.

RESUMEN: *Listeria monocytogenes* es un patógeno causante de enfermedades alimentarias. En la búsqueda de controlar su propagación utilizando sustancias naturales se planteó el objetivo de mostrar si el extracto etanólico foliar de neem (*Azadirachta Indica* A. Juss.) tiene efecto antimicrobiano sobre *L. monocytogenes* ICTA-12446. El extracto se obtuvo a partir de hojas de neem sometidas a secado por 8 días, se redujeron de tamaño mecánicamente, se sometieron a maceración en frío por 3 días usando etanol 96% en recipientes ámbar, se filtró y concentró en rota evaporador. Se estandarizó el concentrado con dimetilsulfóxido (DMSO) a una concentración de 60 mg/L. *Listeria monocytogenes* ICTA-12446, fue inoculado en caldo nutriente junto con soluciones del extracto a diferentes concentraciones (20, 30, 40, 50 y 60 mg/L), se emplearon tiempos de contacto (2.5, 5, 10 y 15 minutos). Cumplido cada tiempo se realizaron diluciones seriadas e inocularon en agar nutritivo por extensión durante 24 h a 37°C. Se efectuó el recuento en Unidades Formadoras de Colonias UFC. Al comparar las concentraciones del extracto se evidencia entre 20 y 60 mg/mL diferencia significativa, mientras que en 30, 40 y 50 mg/mL un comportamiento similar. Al contrastar tiempos de contacto, se observa que entre el tiempo 2.5 min y los restantes un $p=0,03$. El tiempo mínimo donde existió inhibición fue 2.5 minutos, y concentración mínima inhibitoria de 20 mg/mL. Los cuatro tiempos de contacto arrojan porcentajes de inhibición microbiana de 100% al emplear 60mg/mL. Se concluye que el extracto etanólico foliar de neem posee un efecto inhibitorio sobre *Listeria monocytogenes*.

Palabras clave: Bacteriostático, bactericida, neem, extracto etanólico, *L. monocytogenes*.

SUMMARY: Antimicrobial effect of ethanol extract of leaf neem (*Azadirachta indica* A. Juss) on *Listeria monocytogenes*. *Listeria monocytogenes* is a pathogen causing foodborne illness. In seeking to control its spread using natural substances in order to show if the leaf ethanol extract of neem (*Azadirachta indica* A. Juss) has antimicrobial effect on *L. monocytogenes* ICTA-12446, was proposed. The extract was obtained from neem leaves, which was subjected to drying for 8 days. It was reduced in size mechanically, and subjected to cold soak for 3 days, using 96% ethanol in amber vessels, filtered and concentrated in rot evaporator. Concentrated was solubilized with dimethylsulfoxide (DMSO) and standardized to achieve a concentration of 60 mg/mL *Listeria monocytogenes* was inoculated in nutrient broth with extract solutions at different concentrations (20, 30, 40, 50 and 60mg/mL), four contact times (2.5, 5, 10 and 15 minutes) were used. Completed each time it was diluted and inoculated on nutrient agar by extension for 24h at 37°C. The count of Colony Forming Units UFC was taking. Comparing the concentrations of the extract between 20 and 60mg /mL significant difference was appreciate, while 30, 40 and 50 mg/mL show a similar behavior. Contrasting contact times observed between time 2.5 min and the remaining $p = 0.03$. The minimum time where there was some kind of inhibition was 2.5 minutes, and minima inhibitory concentration of 20mg/mL. The four contact times yield microbial inhibition percentages of 100% by using 60mg/L. It is concluded that ethanol extract of neem leaf has an inhibitory effect on *L. monocytogenes*.

Key words: Bacteriostatic, bactericidal, neem, ethanol extract, *L. monocytogenes*.

INTRODUCCIÓN

Listeria monocytogenes se caracteriza por ser un bacilo Grampositivoaerobio o anaerobio facultativo. Se le considera un patógeno mesófilo, aunque tiene la capacidad de desarrollarse a temperaturas de refrigeración y rangos de pH muy variables lo cual

le diferencia de otras bacterias patógenas. Esta capacidad de adaptación tanto a condiciones como ambientes hostiles, hacen que *L. monocytogenes* presente un potencial fenotípico que actúa como factor de virulencia. Puede causar brotes delisteriosis, enfermedad esta que genera manifestaciones graves en el individuo tales como meningitis y/o encefalitis,

abortos o infecciones neonatales y septicemias afectando principalmente a mujeres embarazadas, ancianos e inmunocomprometidos (1).

Alimentos contaminados con *L. monocytogenes* son una de las principales causas de brotes de listeriosis; y pueden conducir a las denominadas enfermedades transmitidas por los alimentos (ETA), lo que llevaría a un problema de salud pública. En vista que se ha reportado la presencia del patógeno en una amplia variedad de alimentos entre ellos vegetales frescos y productos lácteos procesados (2,3), medidas de control sencillas y eficaces para prevenir o disminuir su acción deben ser establecidas. El uso de biocontroladores obtenidos a partir de extractos de plantas, ha venido siendo una alternativa útil y eficiente para controlar patógenos de alimentos a escala de laboratorio (4).

El árbol de neem (*Azadirachta Indica* A. Juss) de la familia *Meliaceae*, se ha utilizado en la medicina tradicional contra varias enfermedades humanas. Su hoja posee una diversidad de compuestos como hidratos de carbono, minerales, aminoácidos y su principal componente activo la azadiractina, le confiere una amplia gama de actividades farmacológicas y aplicaciones medicinales (5). Se ha demostrado una cierta actividad antimicrobiana de extractos de neem sobre diferentes microorganismos como *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y bacteriófagos (6).

Considerando el comprobado efecto inhibitorio que posee las hojas del neem sobre estos microorganismos, y buscando una medida para controlar el desarrollo de *L. monocytogenes* como patógeno alimentario, evitar su presencia y proliferación en los alimentos, se propuso evaluar el efecto bacteriostático y/o bactericida que pudiese tener el extracto etanólico foliar del neem (*Azadirachta indica* A. Juss) sobre *L. monocytogenes* y de esta forma dar paso a la aplicación de posibles biocontroladores como métodos alternativos que mejoren la calidad microbiológica de los alimentos.

MATERIALES Y METODOS

Preparación del extracto etanólico foliar

Arboles de neem ubicados en la U.E “Luisa del Valle Silva” del campus Bárbula de la Universidad de Carabobo, fueron identificados y autenticados por un botánico del Departamento de Biología en la Facultad de Ciencias y Tecnología de la Universidad de Carabobo. Se recolectaron hojas de los mismos las cuales fueron lavadas vigorosamente con agua

corriente del grifo y un enjuagado final con agua destilada estéril. El material fue cortado en pedazos pequeños y luego colocado en estufa a 70 °C durante ocho días. Posteriormente se redujo el tamaño de forma mecánica y se pulverizó hasta obtener partículas finas, se sometió a maceración en frío usando etanol 96% en recipientes ámbar por 3 días; se filtró y concentró utilizando un concentrador Eppendorf 5301, manteniendo una temperatura de 45°C por 90 min tiempo donde el etanol fue eliminado. Se tomó una alícuota de 0,06 g del extracto concentrado y se solubilizó con 1 mL de dimetilsulfóxido (DMSO) de grado analítico para lograr una concentración final de 60 mg/mL (7). A partir de este estándar se prepararon soluciones con concentraciones de 20, 30, 40 y 50 mg/mL.

Preparación del inóculo microbiano

Se tomó el cultivo de *L. monocytogenes* ICTA-12446 de 24 horas de crecimiento en agar nutritivo. A partir de allí y con ayuda de un asa de platino se sembró un nuevo cultivo y se incubó a 37°C en caldo nutritivo durante un período de 24 horas. Posterior a este período de tiempo, se realizó una suspensión de la bacteria con agua estéril, ajustando la densidad de la suspensión del cultivo mediante la comparación de medidas de turbidez en un espectrofotómetro (EMCLAB, EMC-11D-V) con respecto a un estándar de 0,5 de Mc Farland de BaSO₄, a fin de garantizar un inóculo inicial de 108 UFC de *L. monocytogenes*/mL. Se verificó la viabilidad de la cepa de *L. monocytogenes* ICTA-12446 para cerciorarse de su crecimiento y autenticidad en placas de agar nutriente y placas de agar PALCAM incubándose durante 24 h a 37°C (8).

Efecto antimicrobiano del extracto etanólico foliar de la planta neem (*Azadirachta Indica* A. Juss)

Para esta evaluación se utilizó el método de dilución en agar. Las diferentes concentraciones del extracto etanólico de neem fueron enfrentadas con una suspensión de *L. monocytogenes* ICTA-12446, de 108 UFC en una relación a partes iguales y empleando cuatro tiempos de contacto (2.5, 5, 10 y 15 minutos). Cumplido cada tiempo de contacto se realizaron diluciones seriadas del extracto (20, 30, 40, 50 y 60mg/mL) se tomaron 100 µL y se inocularon en agar nutritivo por extensión con ayuda de una espátula de Drigalski, se incubaron por 24 h a 37°C. Luego se efectuó el recuento de microorganismos en UFC el cual fue considerado como el número de

microorganismos sobrevivientes.

La concentración mínima inhibitoria (CMI) se definió como la concentración más baja de extracto de la planta donde se observó un porcentaje de inhibición de 100%. (9). Por otro lado, el tiempo mínimo de inhibición (TMI) se estableció como el tiempo más bajo en el cual se alcanzó una inhibición de crecimiento microbiano de 100%. Se utilizó como control negativo etanol en cantidades que corresponden al volumen más alto presente en el ensayo de dilución en agar. Además, placas de agar nutritivo inoculadas sin el extracto etanólico de neem añadido sirvieron como control positivo.

Análisis de los Datos

El porcentaje de inhibición microbiana se realizó mediante la fórmula:

$$\%IM = \frac{M_0 - M_f}{M_0} \times 100$$

Donde:

M₀: concentración microbiana inicial

M_f: concentración microbiana final.

Para determinar los cambios en la dinámica poblacional en UFC de *L. monocytogenes* ICTA-12446, de acuerdo a las concentraciones del extracto etanólico de neem usadas en el estudio; se promediaron y se graficaron los valores en UFC obtenidas, a fin de presentar las respectivas tendencias de variación microbianas, comparando cada uno de los tratamientos mediante la aplicación de la prueba de correlación de Spearman (prueba no paramétrica que mide la diferencia entre una distribución observada y otra esperada) empleando un nivel de confianza de 95%. Los datos fueron procesados a través del programa estadístico STATISTIX 9.0.0. Todas las evaluaciones se realizaron por cuadruplicado.

RESULTADOS

La figura 1 muestra los resultados correspondientes al comportamiento de *L. monocytogenes* ICTA-12446, en los diferentes tiempos de contacto evaluados para cinco concentraciones del extracto. En todas las concentraciones de extracto evaluadas, se observa una disminución progresiva lo que es algo comparable con un modo de acción estática.

En los tiempos de contacto 2.5 y 5 minutos se observó un descenso progresivo de la población microbiana conforme se incrementa la concentración del extracto etanólico foliar de neem; sin embargo, a los 2.5 minutos, se presenta una disminución significativa del crecimiento cuando la concentración del extracto es de 50mg/mL, mientras que, a los 5 minutos de contacto este fenómeno se observó a partir de la concentración de 40mg/mL. De igual forma se pudo observar que cuando se incrementa el tiempo de contacto, se obtiene un descenso más marcado de la población microbiana de *L. monocytogenes* ICTA-12446, esto se evidencia a los 10 minutos con una concentración de 20mg/mL del extracto etanólico de neem; por su parte en el tiempo de contacto más elevado empleado (15 minutos) la disminución se hizo evidente en relación a cualquiera de las concentraciones del extracto etanólico foliar de neem utilizada en el ensayo, siendo los niveles más bajos encontrados para la concentración de 50 y 60 mg/mL.

En la figura 2 se muestra el porcentaje de inhibición alcanzado luego de evaluar los diferentes tiempos de contacto del extracto etanólico de neem con el cultivo de *L. monocytogenes* ICTA-12446. Se observa que en los cuatro tiempos de contacto utilizados se llega a porcentajes de inhibición microbiana de 100% cuando se emplea la concentración de 50 y 60mg/mL. Las variables restantes utilizadas van aumentando el porcentaje de inhibición microbiana de forma proporcional a medida que se aumenta la concentración del extracto y el tiempo de contacto.

Al comparar las concentraciones del extracto se evidencia que existe diferencia estadísticamente significativa ($p=0,002$) entre las concentraciones de 20 y 60 mg/mL, mientras que las concentraciones de 30, 40, 50 y 60 mg/mL tienden a tener un comportamiento relativamente similar. El mismo análisis comparó los tiempos de contacto, encontrándose diferencia significativa entre el tiempo de 2.5 minutos y los restantes (5, 10 y 15 minutos) ($p = 0,03$), no presentando diferencias significativas entre los 5, 10 y 15 minutos ($p = 0,18$).

Se evidencia que el tiempo mínimo requerido para observar algún tipo de inhibición del crecimiento de *L. monocytogenes* ICTA-12446, utilizando extracto etanólico foliar de neem (*Azadirachta indica* A. Juss) bajo el criterio establecido para el TMI es de 2.5 minutos; mientras que la CMI sería de 20mg/mL de extracto etanólico.

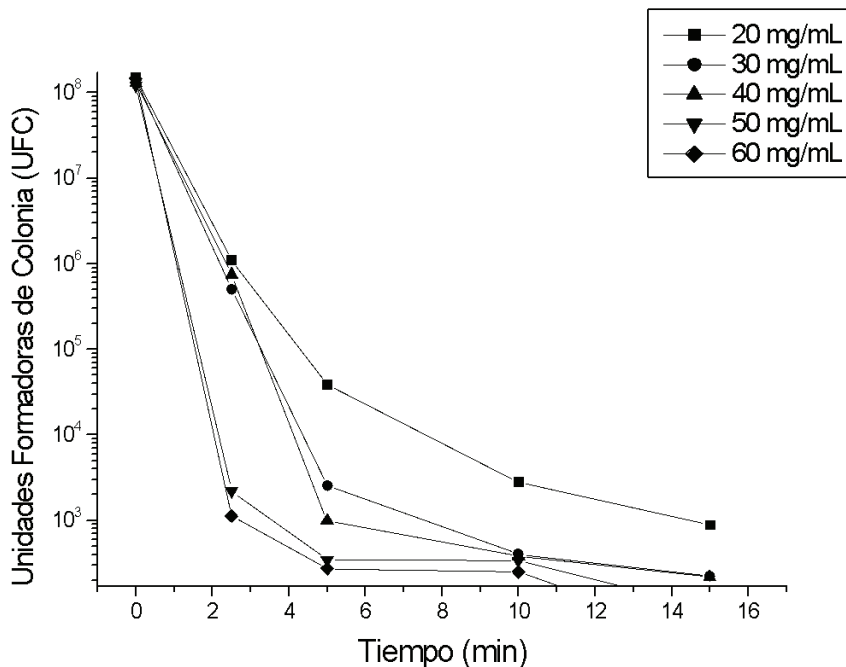


FIGURA 1. Comportamiento poblacional de *L. monocytogenes* a concentraciones variables de extracto etanólico foliar de neem (*Azadirachta Indica* A. Juss) y tiempos de contacto.

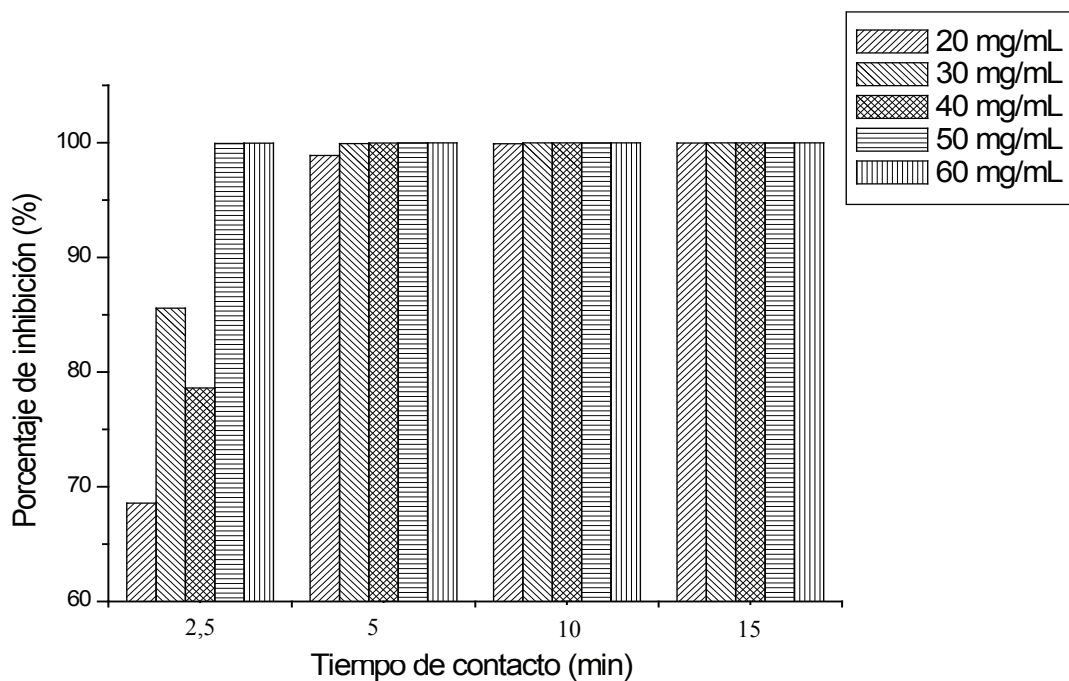


FIGURA 2. Porcentajes de inhibición del crecimiento de *L. monocytogenes* a concentraciones variables de extracto de neem (*Azadirachta indica* A. Juss).

DISCUSION

Los resultados obtenidos muestran un efecto entre 12 y 26 veces más inhibitorio que el reportado por Mahfuzul y col (10), quienes evaluaron el efecto de extractos de neem sobre el crecimiento de varias cepas microbianas, encontrando que los extractos de neem (*Azadirachta Indica* A. Juss) mostraban actividad antimicrobiana de un 7 a 26% en microorganismos del tipo Gram positivo en estudio, además destacan que la actividad antimicrobiana se desarrolla mejor si el extracto de la planta es etanólico, tal como el realizado en esta investigación. Por su parte, Valarmathy y col. (11), destacan que los extractos etanólico de neem (*Azadirachta Indica* A. Juss) son más eficaces contra algunas bacterias que extractos provenientes de otras plantas. Esta acción es producto de las propiedades e interacciones químicas presentes, en vista que muchos compuestos polares como flavonoides, taninos, alcaloides, con actividad antimicrobiana, son fácilmente extraídos con ayuda de etanol por lo que estos extractos presentan un eficaz efecto.

Estos porcentajes elevados de inhibición bacteriana confirman los resultados de investigaciones previas que indican que los extractos de las hojas de neem (*Azadirachta Indica* A. Juss) poseen una buena actividad antibacteriana, siendo que la presencia de algunos metabolitos secundarios como los alcaloides, saponinas, esteroides, triterpenos puede ser las responsables de este efecto mostrando el gran potencial de los compuestos bioactivos que la planta posee (12). La presencia de compuestos fenólicos probablemente ejercen efectos tóxicos a nivel de la membrana donde se acumulan y provocan una pérdida de integridad interviniendo en la formación de las estructuras lipídicas del microorganismo, ocasionando daño y muerte celular. En base a esto, Barsagade y Wagh en el año 2010 (13) sugieren que los agentes bioactivos de la planta tienen una gran actividad como compuestos antimicrobianos y que, por lo tanto, pueden ser utilizados en el tratamiento de las enfermedades infecciosas.

Se puede concluir, que aunque la concentración de extracto de 20 mg/mL y el tiempo de 2.5 minutos fueron las variables donde se alcanzó 100% de inhibición por separado, partiendo desde el punto de vista estadístico, la mejor opción a tomar en consideración para alcanzar un efecto óptimo en conjunto sería el empleo de 30mg/mL con 5 minutos de tiempo de contacto. Además, los resultados obtenidos dan base para inferir

que el extracto etanólico foliar de la planta neem (*Azadirachta Indica* A. Juss) puede ser una herramienta útil para el control de *Listeria monocytogenes* y muy beneficioso desde el punto de vista de la industria alimentaria, presentando ventajas tales como: es biodegradable, es menos tóxico que otras sustancias coadyuvantes, y no desequilibra la biodiversidad de los agroecosistemas dado que se estaría obteniendo un producto natural de bajo costo que puede ser usado como conservante lo que tendría gran impacto en la economía ya que, al contar con un buen control de los microorganismos, los alimentos producidos tendrán una mejor calidad y ello se verá reflejado en las ventas del producto. Además, podría generar brechas de gran interés para la industria farmacéutica porque a partir de un producto con capacidad para inhibir microorganismos se pueden originar nuevos antibióticos para el control de patógenos. Por otro lado, este extracto podría utilizarse como coadyuvante con otros compuestos que produzcan inhibición, para así provocar efectos sinérgicos amplios para el tratamiento y prevención de estos contaminantes en alimentos.

REFERENCIAS

1. Schöbitz R, Ciampi L, Nahuelquin Y. *Listeria monocytogenes* un peligro latente para la industria alimentaria. *Agro sur* 2009; 37(1):1-8.
2. Ramírez L, Morón de Salim A, Alfieri A, Gamboa O. Detección de *Listeria monocytogenes* en queso blanco criollo, mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). *Arch Latinoamer Nutr* 2010; 60(3):254-260.
3. Ramírez L, Morón de Salim A, Alfieri A, Gamboa O. Frecuencia de *Listeria monocytogenes* en muestras de tomates (*Lycopersicum esculentum*) y cilantro (*Coriandrum sativum*) frescos en tres supermercados de Valencia. Venezuela. *Arch Latinoamer Nutr* 2009; 59(3):318-324.
4. Negi PS. Plant extracts for the control of bacterial growth: Efficacy, stability and safety issues for food application. *Int J FoodMicrobiol* 2012; 156:7-17.
5. Subapriya R, Nagini S. Medicinal properties of neem leaves: a review. *Curr Med Chem Anticancer Agents* 2005; 5(2):149-6.
6. López Y, Escalante M, Martínez C, Soto J, Chaidez C. Efecto antimicrobiano de extractos crudos de Neem (*Azadirachta Indica* A. Juss) y venadillo (*Swieteniahumilis* Zucc) contra *E. coli*, *S. aureus* y el bacteriófago P22. *Bioquímica* 2007; 32(4):117-125.
7. Atep D, Erdoúrul Z. Antimicrobial Activities of Various Medicinal and Commercial Plant Extracts.

- Turk J. Biol. 2003; 27: 157-162.
8. Ramírez Mérida L, Morón de Salim A, Catinella R, Castillo L. Efecto bacteriostático y/o bactericida del extracto de gel de Aloe vera sobre cultivos de *Listeria monocytogenes*. Arch Latinoamer Nutr 2012; 62 (1): 73-78.
 9. Weckesser S, Engel K, Simon-Haarhaus B, Wittmer A, Pelz K, Schempp C.M. Screening of plant extracts for antimicrobial activity against bacteria and yeasts with dermatological relevance. Phytomedicine 2007;14: 508–516.
 10. Mahfuzul H, Bari M, Inatsu Y, Vijay K, Kawamoto S. Antibacterial activity of guava (*Psidium guajava* L.) and neem (*Azadirachta Indica* A. Juss) extracts against food borne pathogens and spoilage bacteria. Mary Ann Liebert 2007; 4(4): 481-488.
 11. Valarmathy K, Gokulakrishnan M, Kausar M, Kusum P. A study of antimicrobial activity of ethanolic extracts of various plant leaves against selected microbial species. IJPR 2010; 1(8): 293-295
 12. Koon S, Budida S. Antibacterial potential of the extracts of the leaves of *Azadirachta Indica* A. Juss. NotSci Biol 2011; 3(1): 65-69.
 13. Barsagade N, Wagh G. Comparative screening of leaf extracts of common plants and weeds for their antibacterial and antifungal activities. Asiatic J. Biotech Res; 3(1): 227-232.

Recibido: 08-10-2015
Aceptado: 19-12-2015

Evaluation of extracts from potato and tomato wastes as natural antioxidant additives.

*María del Carmen Robles-Ramírez, Ricardo Monterrubio-López,
Rosalva Mora-Escobedo, María del Carmen Beltrán-Orozco.*

Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional, México, D.F. México.

SUMMARY: The industrialization of potato and tomato produces large amount of wastes. Previous studies have demonstrated that these by-products are rich in antioxidant compounds. In this study, the composition and antioxidant efficacy of extracts from potato and tomato by-products were determined in order to evaluate their potential as food additives. Potato and tomato wastes showed to be good sources of fiber, protein and antioxidants. The antioxidant activity and total phenolic, carotenoid and lycopene contents were determined in methanol, ethanol and acetone extracts of the residues. Methanol was the best solvent for the extraction of phenolics while acetone was the best in the extraction of carotenoids in both residues. The greatest antioxidant activity (14.10 $\mu\text{mol Trolox/g}$) resulted when potato peels were extracted with ethanol. The oxidative stability of canola oil containing either ethanol extracts of potato and tomato wastes (200 and 400 mg/kg) or the synthetic antioxidant BHT (200 mg/kg), compared to oil without antioxidants, was evaluated by measuring their peroxide values, conjugated dienes and p-anisidine value after 72 and 144 h storage at 65 °C. The order of antioxidant efficacy was as follows: potato peels > BHT > tomato residues. The results showed that ethanol extracts of potato and tomato waste could be used as natural antioxidant additives in the protection of vegetable oils.

Key words: Tomato by-products, potato peels, total phenolics, total carotenoids, lycopene, antioxidant additives.

RESUMEN: Evaluación de extractos obtenidos a partir de desperdicios de papa y jitomate, como aditivos antioxidantes naturales. La industrialización de la papa y el jitomate genera grandes cantidades de desechos. Estudios previos han demostrado que estos subproductos son ricos en compuestos antioxidantes. En este trabajo se determinaron la composición y la eficacia antioxidante de subproductos de papa y jitomate con el fin de evaluar su potencial como aditivos alimentarios. Los desechos de papa y jitomate demostraron ser buenas fuentes de fibra, proteína y antioxidantes. Se determinó la actividad antioxidante y el contenido de compuestos fenólicos, carotenoides y licopeno en extractos metanólicos, etanólicos y acetónicos de los residuos. El mejor disolvente para la extracción de compuestos fenólicos fue el metanol mientras que la acetona fue el mejor disolvente para extraer los carotenoides. La mayor actividad antioxidante (14.10 $\mu\text{mol Trolox/g}$) se obtuvo cuando las cáscaras de papa se extrajeron con etanol. La estabilidad oxidativa de aceite de canola adicionado con los extractos etanólicos de desechos de papa o jitomate (200 y 400 mg/kg) o con el antioxidante sintético BHT (200 mg/kg), comparándolos con aceite sin antioxidantes, se evaluó mediante la medición de su índice de peróxidos, dienos conjugados e índice de anisidina, después de almacenarlo a 65°C durante 72 y 144 h. El orden de eficacia antioxidante fue como sigue: cáscara de papa > BHT > residuos de jitomate. Los resultados demostraron que los extractos etanólicos de los desperdicios de papa y jitomate podrían ser usados como aditivos antioxidantes naturales en la protección de aceites vegetales.

Palabras clave: Subproductos de jitomate, cáscaras de papa, fenólicos totales, carotenoides totales, licopeno, aditivo antioxidante.

INTRODUCTION

Lipids can undergo a series of chemical reactions such as autoxidation, thermolysis and polymerization when they are exposed to heat, light, oxygen and other oxidizing agents (1). This results in the decrease of the nutritional value of food as well as changes in colour, texture and other sensory and physiological properties. Lipid peroxidation resulting from the reaction between the unsaturated fatty acids and mo-

lecular oxygen is a severe problem for the fat and oil industry. It not only deteriorates the quality of fat and fatty foods causing chemical damage, but also produces free radicals and reactive oxygen species that are associated with carcinogenesis, mutagenesis, inflammation, aging and cardiovascular disease. Because of this, the consumers do not accept oxidized products and, as a consequence, the food industries suffer economic losses (2).

Synthetic antioxidants, such as BHT (butylated hydroxytoluene), BHA (butylated hydroxyanisole) and TBHQ (tertiary butyl hydroquinone) have been widely used for the preservation and protection of high-fat products against oxidation. However, some studies indicate that these compounds may be involved in many health risks, including hepatic damage and cancer (3). Therefore, research has been focused on the study of naturally occurring antioxidants, such as those from agricultural by-products, as sources of food additives (4-8). The efficiency of methanolic extracts of wastes from pomegranate, apple, banana, citrus, corn, wheat, and rice for improving the oxidative stability of corn oil has been proven (5). The methanolic extracts of peels from tomato, cucumber, and watermelon also had antioxidant activity against sunflower oil oxidation (8) while extracts of potato peels and sugar beet pulp were effective in stabilizing sunflower and soybean oils (2).

Tomatoes and potatoes are two crops widely grown in the world. In 2013 the world production of tomatoes and potatoes was approximately 163 and 374 million tons, respectively (9). The industrialization of these vegetables produces large amounts of waste (20-50 kg/ton and 100-120 kg/ton of the initial weight of tomatoes and potatoes, respectively) that could be used in the production of antioxidants (10-11). Dry tomato by-products (seeds and peels) have a high content of carotenoids (approximately 950 mg/kg), mainly lycopene, lutein and β -carotene (11), as well as the phenolic compounds quercetin and kaempferol (8). On the other hand, chlorogenic, caffeic, protocatechuic, hydroxybenzoic, p-coumaric, ferulic, and gallic acids have been identified in potato peels (8,12). The high antioxidant activity of all of these compounds has been demonstrated in different studies. Phenolic compounds have an ideal structure for scavenging free radicals because they have phenolic hydroxyl groups that are prone to donate a hydrogen atom or an electron to a free radical and have a conjugated aromatic system to delocalize the impaired electron (1). On the other hand, carotenoids can interact with free radicals and have the ability to quench singlet oxygen due to their conjugated double bond system (8).

The objectives of this study were to determine the total phenolic compounds, carotenoids and antioxidant activity of extracts from potato and tomato was-

tes obtained with different solvents, and to evaluate its effectiveness in preventing the oxidation of canola oil.

MATERIALS AND METHODS

Reagents

ABTS (2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)], potassium persulfate, trolox (6-hydroxy-2, 5, 7, 8-tetramethylchromane-2-carboxylic acid), gallic acid, BHT (butylated hydroxytoluene), and p-anisidine, were purchased from Sigma-Aldrich (St. Louis, MO).

Materials

Potato tubers (*Solanum tuberosum* L. cv. Alpha) and tomatoes (*Lycopersicon esculentum* Mill. cv. Saladette) were obtained from a local retail market of Mexico City. Both vegetables (20 kg each) were of a maturity state similar to that used for the industry and without any physical damage. Potatoes were washed and peeled with a mechanical peeler, whereas tomatoes were previously fractionated and heated at 90°C for 60 sec (hot break) and then sieved to obtain the by-products (peels and seeds). Both residues were then dried in a convection oven at 45°C, ground and sieved through a 0.5 mm standard mesh. Canola refined oil without antioxidants were obtained from a local refinery of Mexico.

Proximate analysis of potato and tomato residues

Moisture, crude protein, crude fat, ash, and crude fiber were determined according to the methods of AOAC (13), whereas carbohydrates were calculated by difference.

Extraction of antioxidant compounds

Ground materials (10 g) were extracted in a shaker with 100 mL of 80% ethanol at room temperature overnight. Afterward, the extract was recovered by centrifugation at 6182 g for 15 min at 4°C, and the residue was re-extracted under the same conditions. The combined extracts were evaporated in a rotary evaporator at 40 °C. Dry extracts were weighed and stored at -20°C in the dark for further use in the oxidative stability determination. The antioxidant compounds were extracted with different solvents (80% ethanol, 80% methanol, and acetone) in order to select the best

solvent to give the highest yield of antioxidants. For the determination of phenolic compounds, carotenoids, lycopene, and antioxidant activity, extracts were used without evaporation.

Total phenolics determination

Total phenolic content was determined using the modified Folin-Ciocalteu method (14). A 0.5 mL aliquot of extract solution was mixed with 4.5 mL of distilled water and 0.5 mL of Folin-Ciocalteu reagent, and allowed to react at room temperature for 3 min. Then, 1 mL of 1N sodium carbonate was added, and the mixture was incubated at room temperature for 1 h. The absorbance was measured at 725 nm. Gallic acid was used as standard and total phenolic content was expressed as milligrams of gallic acid equivalents (GAE) per 100 g dry weight (DW) sample.

Total carotenoids and lycopene determination

Carotenoids and lycopene contents were determined according to the methods of Scott (15), and Fish et al. (16), respectively, with slight modifications. In brief, 10 mL of sample extract was added to 10 mL of hexane into an assay tube previously wrapped in aluminum foil. The tube was introduced in an ice bath and stirred in an orbital shaker at 180 rpm for 15 min. Then, 3 mL of deionized water was added to each tube, and the samples were shaken for 5 min more. Shaking was stopped, and tubes were left at room temperature until phase separation. The absorbance of the hexane layer (A) was measured at 450 nm for total carotenoids determination, and at 503 nm for lycopene content, using a blank of hexane. The total carotenoid (TC) concentration was calculated as follows: $TC \text{ (mg/kg)} = (A \times V \times 104) / (A1\% \times m)$; where A is the absorbance at 450 nm, V is the hexane volume, A1% is the extinction coefficient for total carotenoids (2500), and m is the weight of the sample in the extract. The lycopene content was estimated by the relation: $Lycopene \text{ (mg/kg)} = A \times 31.2 / m$; where A is the absorbance at 503 nm, and m is the weight of the sample in 10 mL of solvent.

ABTS radical-scavenging activity

The ABTS radical-scavenging activity was determined according to the method of Re et al. (17). The ABTS•+ stock solution was prepared by mixing 7 mM of ABTS with 2.45 mM of potassium persulfate (final concentration), and allowed to react at room temperature in the dark for 12-16 h. The stock solution was

diluted with ethanol to an absorbance of 0.70 ± 0.02 at 734 nm. Extracts, synthetic antioxidant (BHT) or Trolox standard solutions (20 μ L) were allowed to react with 1980 μ L of ABTS•+ for 7 min, and then the absorbance was measured at 734 nm. Ethanol (80%) was used as a blank. The antioxidant activity was expressed as μ mol of Trolox equivalents (TE) per gram of dry weight.

Oxidative stability determination

The Schaal method was used to evaluate the effect of the extracts against canola oil oxidation (2,18). The extracts of potato peels and tomato residues were applied to refined canola oil (free of antioxidants) at different concentrations (200 and 400 mg/kg of dry extract). BHT at a level of 200 mg/kg was also applied for comparison. An oil sample, without antioxidant, was used as a control. Glass jars (50 mL, wide mouth, with screw caps) were filled with 30 mL of the test samples and were capped. The jars were subjected to accelerated oxidative storage in an oven at 65°C for 144 h. Peroxide value, conjugated dienes, and anisidine value were evaluated in triplicate at zero time, 72 and 144 h.

Determination of the canola oil oxidation

The peroxide value (PV) was determined iodometrically following the AOAC official method (13).

To measure the conjugated dienes, the specific extinction at 232 nm was determined using a spectrophotometer. Previously, the oil samples were diluted with iso-octane to bring the absorbance within limits (0.2-0.8).

The p-anisidine value (AV) was determined according to Cd 18-90 method of AOCS (19). Briefly, 0.2 g of oil samples were dissolved in 25 mL iso-octane and absorbance of this solution was measured at 350 nm using a spectrophotometer. Five milliliters of the above mixture was mixed with 1 mL of 0.25% p-anisidine in acetic acid (w/v) for 10 min, and absorbance was read at 350 nm. Anisidine value was calculated according to the equation: $AV = 25 \times (1.2A_s - A_b) / m$; where A_s is the absorbance of the fat solution after reaction with the p-anisidine reagent, A_b is the absorbance of the fat solution, and m is the mass of the oil sample (g).

Statistical analysis

All analyses were performed in triplicate. The results were expressed as the mean \pm standard deviation.

tion, and significance was determined by ANOVA and Tukey post-hoc test using Microsoft Excel 2007 and the methods described by Montgomery (20). Differences were considered statistically significant if $p < 0.05$. Pearson's correlation coefficient was also calculated using Excel.

RESULTS

Proximate composition of potato and tomato residues

Table 1 shows the proximate composition of tomato and potato by-products. Both wastes had high protein and fiber contents. However, tomato waste had higher fiber and fat amounts and lower ash and carbohydrate contents than potato peels ($p < 0.05$), whereas there was no difference in the protein content of both residues ($p > 0.05$).

TABLE 1. Proximate composition of dry potato and tomato wastes (g /100g)¹

Component	Tomato waste	Potato peels
Moisture	4.15 ± 0.24 ^a	5.76 ± 0.05 ^b
Crude protein	18.10 ± 0.08 ^a	17.88 ± 0.25 ^a
Crude fat	8.26 ± 0.06 ^b	2.62 ± 0.47 ^a
Crude fiber	63.71 ± 0.16 ^b	25.90 ± 0.31 ^a
Ash	4.56 ± 0.09 ^a	7.94 ± 1.88 ^b
Carbohydrates	1.22 ± 0.01 ^a	39.9 ± 1.5 ^b

¹ Results are expressed as mean ± SD of three replicates. Means in the same row with different letters are significantly different (Tukey $p < 0.05$).

TABLE 2. Antioxidant activity, total phenolic (TP), total carotenoid (TC) and lycopene contents of dry potato and tomato wastes extracted with different solvents¹.

Sample	TP (mg/100g)	TC (mg/kg)	Lycopene (mg/kg)	ABTS (µmol/g)
Potato peels				
Methanol	79.20 ± 2.32 ^f	2.24 ± 0.03 ^a	0.83 ± 0.00 ^b	14.13 ± 0.12 ^d
Ethanol	69.29 ± 4.00 ^e	3.60 ± 0.00 ^b	0.65 ± 0.02 ^a	14.10 ± 0.44 ^d
Acetone	11.46 ± 0.00 ^b	3.77 ± 0.05 ^c	0.96 ± 0.02 ^c	1.63 ± 0.39 ^a
Tomato waste				
Methanol	32.26 ± 0.61 ^c	13.39 ± 0.05 ^d	3.40 ± 0.1 ^d	5.19 ± 0.64 ^b
Ethanol	43.43 ± 4.26 ^d	64.65 ± 0.03 ^e	12.00 ± 0.0 ^e	4.77 ± 0.89 ^b
Acetone	3.45 ± 0.26 ^a	294.59 ± 0.11 ^f	101.70 ± 0.1 ^f	7.21 ± 0.89 ^c

¹ Results are expressed as mean ± SD of three replicates. Means in the same row with different letters are significantly different (Tukey $p < 0.05$).

Total phenolics, carotenoids and antioxidant activity in tomato and potato extracts

Table 2 shows the contents of total phenolic compounds, carotenoids and lycopene as well as the antioxidant activity of the samples. The amount of phenolic compounds varied in the different extracts, ranging from 11.46 to 79.20 mg GAE/100 g DW for potato peels, and from 3.23 to 43.43 mg GAE/100 g DW for tomato residues depending on the solvent used to extract them. The results indicated that ethanol and methanol were better than the acetone ($p < 0.05$) to extract phenolic compounds from these kind of materials.

In the case of total carotenoid and lycopene content, acetone was better solvent than methanol and ethanol to extract these components. Total carotenoids were in the range of 2.24 to 3.77 mg/kg for potato peels, and 13.39 to 294.59 mg/kg for tomato wastes, whereas lycopene varied from 0.65 to 0.96 mg/kg for potato peels, and from 3.4 to 101.7 mg/kg for tomato wastes, depending on the solvent used in the extraction.

The extracts obtained from potato peels showed to be more efficient ABTS radical scavengers (14.13, 14.10, and 1.63 µmol trolox/g) than extracts obtained from tomato waste (5.19, 4.77, and 7.21 µmol trolox/g), using methanol, ethanol and acetone. Methanol and ethanol were better solvents to extract antioxidants from potato peels than acetone while acetone was better for tomato by-products. It is worth noting that there was no significant difference ($p > 0.05$)

between the ABTS activity of the methanol extracts and the activity of ethanol extracts in both wastes.

There was a strong positive correlation between antioxidant activity (ABTS) of potato peel extracts and its total phenolic content ($r = 0.99$; $p < 0.0001$) but no significant correlation was observed with respect to total carotenoids, and it was negative with respect to lycopene content ($r = -0.81$ ($p < 0.05$)).

On the contrary, the correlation coefficient between antioxidant activity and total phenolics in the tomato waste extracts was negative (-0.90; ($p < 0.001$)) while was positive with respect to total carotenoid and lycopene contents (0.83 ($p < 0.01$), and 0.74 ($p < 0.05$), respectively).

Effect of the extracts on canola oil oxidation

The antioxidant efficacy of the ethanol extracts towards the stabilization of canola oil was examined. The extract yields obtained with 80% ethanol were 11.97% of potato skins extracts and 9.9% of tomato waste extracts. Peroxide value, conjugated dienes and anisidine value were determined to evaluate the extent of lipid oxidation during the accelerated storage of canola oil at 65°C.

An increase in PV with the increase in the storage time was observed in all samples (Figure 1A). The rate of peroxides formation was slower in the first 72 h with respect to the following 72 h, showing an induction period. A statistically significant diminution of the PV of 21.1, 67.7, 20.0, and 26.3% in canola oil samples added with 200 and 400 mg/kg of potato peel extracts (P200 and P400), and 200 and 400 mg/kg of tomato waste extracts (T200 and T400), respectively, was observed after 72 h of storage time. The PV of canola oil added with BHT was increased by 9.9% at this storage time.

Canola oil samples containing either potato peel extracts (200, 400 mg/kg) or tomato waste extracts (200, 400 mg/kg) and BHT (200 mg/kg) reached maximum peroxide values of 18.42, 17.45, 20.45, 19.23, 19.24 meq/kg, respectively. These values were significantly lower than those obtained in the canola oil without antioxidants which had a maximum PV of 26.69 meq/kg after 144 h of accelerated storage. The PV of oils added with P200 and P400 were significantly lower and that of the oil added with T200 higher than the PV of the oil with BHT ($p < 0.05$) while there was no difference between the PV of the oil added with T400 and that of the oil with BHT ($p > 0.05$).

Figure 1B presents the relative increase in conjugated dienes (CD) content in the oil samples as function of storage time at 65°C. The highest content of conjugated dienes was observed in the canola oil free of antioxidants which reached a maximum value of 21.47 after 144 h of storage. This was followed by T200 (12.96), T400 (5.35), BHT (4.56), P200 (2.98) and P400 (1.89). The differences with respect to

control without antioxidants were highly significant ($p < 0.0001$). However, the CD content of oils added with tomato waste extracts was lower than that of the oil with BHT ($p < 0.01$) whereas the CD content of oils added with potato peel extracts was higher than that of the oil with the synthetic antioxidant ($p < 0.001$).

Figure 1C shows the p-anisidine value for canola oil samples stabilized with ethanolic extracts of pota-

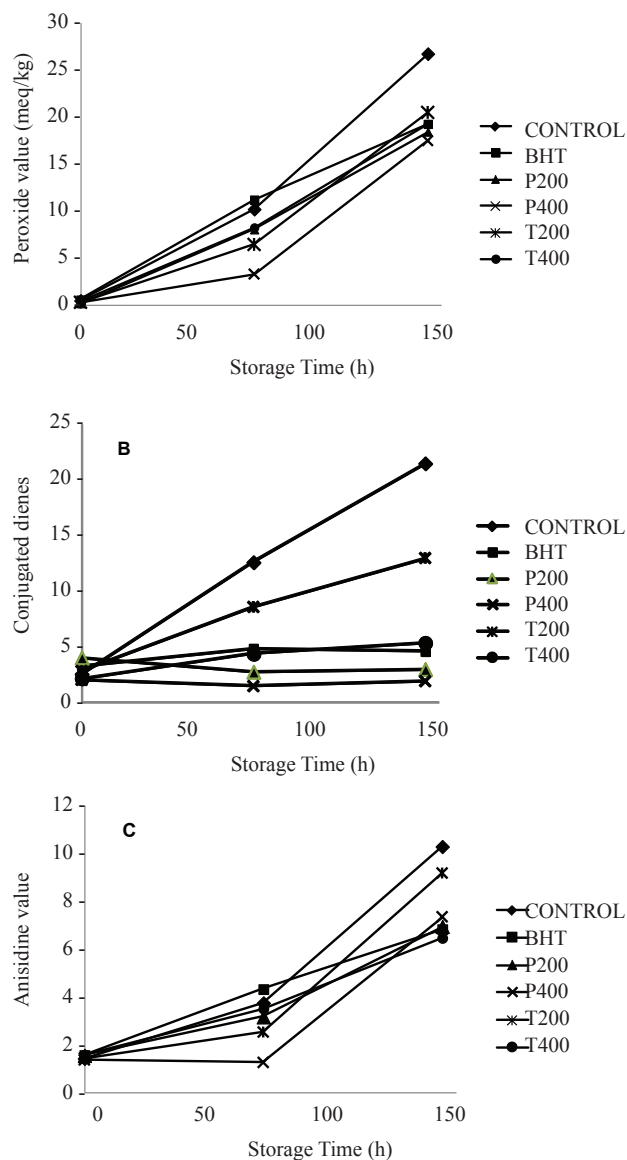


FIGURE 1. Relative increase of peroxide value (A), conjugated dienes (B) and anisidine value (C) of canola oil treated with 200 or 400 mg/kg of ethanol extracts of potato peels (P) or tomato waste (T) and 200 mg/kg of BHT synthetic antioxidant under accelerated storage. Values are means of three replicates.

to and tomato by-products, BHT, and control. Control oil reached a maximum value of 10.27 after 144 h of storage while BHT, P200, P400, T200 and T400 reached average values of 6.82, 6.94, 7.34, 9.16, and 6.46, respectively. The differences with respect to control without antioxidants were highly significant ($p < 0.01$). There was no difference between BHT and P200 ($p = 0.41$) while oils added with P400 and T200 had AV higher than the oils added with BHT ($p < 0.05$), and the oils added with T400 had AV lower than the oils with the synthetic antioxidant ($p < 0.001$).

DISCUSSION

There are already some published works about the potential of potato and tomato waste as antioxidants (2,5,6,8). However, this study provides new data that can help to make sustainable the industrialization of these vegetables. In this work, information about the antioxidant potential of by-products from potato and tomato of botanical varieties not reported by other studies was obtained. Moreover, the relative differences between the two by-products in terms of the nature of the compounds responsible for their antioxidant activity were established.

The proximate analysis of potato and tomato by-products showed that these residues are good sources of fiber and protein. A food product is considered a "good source" of any nutrient if it provides 10-19% of the recommended dietary allowance (21). The consumption of 35 g of these by-products provides more than 10% of the dietary reference intakes of protein and fiber in a diet of 2500 kcal. The potential health benefits of dietary fiber are well documented. The consumption of dietary fiber reduces the risk of developing diseases such as diabetes, obesity, coronary and cardiovascular diseases, gastrointestinal disorders, hypertension, stroke, and colon cancer (22). The composition of potato peels determined in this work differed from that obtained by Mohdaly et al. (2) who found values of 6.55% moisture, 8.46% crude fat, 13.9% crude protein, 8.48% ashes, 13.0% crude fiber, and 56.2% of carbohydrates, in potato peels from Diamond variety. These differences could be attributed to variations in culture conditions, method of peeling, and potato variety. On the other hand, the composition of tomato residues was similar to that found by Knoblich et al. (11) for tomato seeds (20.2, 6.4, 53.8, and 5.2% for protein, fat, fiber and ashes, respectively).

Ethanol and methanol were better than acetone to extract phenolic compounds from the potato and tomato residues. It is known that the extraction efficiency of polyphenols depends on the solvent polarity and on the molecular weight of phenolic components among other factors (1). The low molecular weight polyphenols, which predominate in the potato and tomato residues, are best extracted with methanol and ethanol which have higher polarity than acetone. Hanson et al. (23) found values ranging between 29 and 161 mg GAE/100 g in different varieties of tomatoes while Nawal et al. (8) and Samarin et al. (6) obtained 39 and 52.2 mg GAE/100 g potato peels, respectively, using methanol as solvent.

On the other hand, acetone was better solvent than methanol and ethanol to extract the carotenoid components of the samples, probably due to their lipidic nature. Lipids are more soluble in less polar solvents. The higher amount of these compounds was found in tomato residues. Tomato and their by-products are considered an important source of carotenoids and the major source of lycopene (8,11). In the present work, a maximum of 294.59 mg/kg total carotenoids and 101.72 mg/kg lycopene was obtained using acetone as solvent. Knoblich et al. (11) reported 734 mg/kg lycopene in tomato peels and 130 mg/kg in tomato seeds.

Antioxidant activity of the extracts was determined by ABTS method which was chosen because it can be applied to determine antioxidant capacity of both hydrophilic and hydrophobic antioxidants of plant extracts (1). The extracts obtained from potato peels showed to be more efficient ABTS radical scavengers than extracts obtained from tomato waste although the latter had the highest levels of carotenoid compounds. This was due to that phenolic compounds apparently contributed more to ABTS scavenging activity than carotenoid compounds. The highest antioxidant activity was obtained from the extracts with 80% methanol and with 80% ethanol, while the values obtained with acetone (in which predominate carotenoid compounds) were very low. The Pearson's correlation coefficients indicate that polyphenols are largely responsible for the antioxidant activity of potato peel extracts while carotenoids and lycopene are responsible for the antioxidant activity in tomato residues. The main antioxidant compounds that have been identified in potato peels are caffeic acid, chlorogenic acid, protocatechuic acid, para-hydroxybenzoic acid, and gallic acid, while in tomato peels are trans-lyco-

pene, cis lycopene, β -carotene, lutein, quercetin, and kaempferol (8), probably all of them contributed to the antioxidant activity of the extracts. Due to the the high content of fiber and antioxidants of potato and tomato residues they could be used as ingredients of functional foods.

Because of their major efficiency, economy and low toxicity, the ethanol extracts were chosen to evaluate the antioxidant effectiveness of potato peels and tomato by-products during oxidation of canola oil. The extract yields obtained with 80% ethanol were 11.97% of potato skins extracts and 9.9% of tomato waste extracts. These yields were higher than those obtained by Mohdaly et al. (24), and Samarin et al. (6) who obtained 10.15% and 5.65%, respectively, of ethanol extracts from potato peels, and Nawal et al. (8) who found 8.14% of methanol extracts from tomato peels.

To evaluate the antioxidant efficacy of the extracts in the stabilization of canola oil, the peroxide value, conjugated dienes and anisidine value were determined under accelerated storage. Peroxide value (PV) is one of the most used tests for the measurement of the peroxides and hydroperoxides concentration formed in the primary steps of lipid oxidation (24). The results showed that the most efficient extract was that obtained from potato peel in a concentration of 400 mg/kg, being superior to the BHT synthetic antioxidant. It has been shown that the flavor scores of oils aged four days at 60°C are equivalent to scores of oils aged four months at room temperature (18). Sunflower oil develops off-flavors at a PV of 13 meq/kg. In the present work, the canola oil free of antioxidants reached this value in approximately 3.5 days of treatment (equivalent to 3.5 months of storage at room temperature), while the oil with 400 mg/kg of potato peel extract (that had the best performance) reached this PV in 5.5 days (5.5 months at room temperature).

Although PV is a widely used method to determine the lipid autoxidation, these results were confirmed with other oxidation indices such as conjugated dienes and anisidine value.

The hydroperoxide formation in the chain of a polyunsaturated fatty acid starts with the hydrogen abstraction or the addition of an oxygen radical. This causes the displacement of a double bond towards the carbon of the adjacent methylene group, resulting in the formation of a conjugated diene (25). The measu-

rement of the UV absorbance at 232 nm (corresponding to conjugated dienes) is thus a good indicator for evaluating the initial oxidation process of a fat. The greater the levels of conjugated dienes, the lower the oxidative stability of the oil. The results demonstrated a remarkable diminution in the generation of conjugated dienes in canola oil added with the extracts of potato and tomato by-products. Again, the extracts from potato peels had better performance than the synthetic antioxidant BHT.

PV and CD only indicate the extent of oxidation in the initial stages of lipid oxidation. Hydroperoxides, the primary oxidation products, are readily decomposed to form a mixture of volatile compounds, mainly aldehydes. In this work the p-anisidine (AV) method was used to determine the secondary oxidative products of lipid oxidation, particularly 2-alkenals and 2,4-dienals. It has been demonstrated that AV is highly correlated with overall odour intensity in heated oils (26). AV, like PV and CD of all oil samples added with the antioxidant extracts, was lower than the control sample, thus showing that the extracts of potato and tomato waste are efficient in protecting the oils against oxidation.

CONCLUSION

From the results of the present study, it is clear that ethanol extracts of potato and tomato waste can be a good alternative to replace the synthetic antioxidants used in the protection of vegetable oils and fatty foods against rancidity. The phenolic compounds rather than carotenoids appear to be responsible for the antioxidant activity of these vegetable wastes. On the other hand, the dry by-products from the industrialization of potatoes and tomatoes are good sources of fiber, protein and antioxidants which could be used as functional food ingredients.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work was financed by Instituto Politécnico Nacional, México (Project SIP20141059).

REFERENCES

1. Dai J, Mumper RJ. Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules* 2010, 15: 7313-7352.
2. Mohdaly AAA, Sarhan MA, Mahmoud A, Ramadan MF, Smetanska I. Antioxidant efficacy of potato peels

- and sugar beet pulp extracts in vegetable oils protection. *Food Chem.* 2010, 123: 1019-1026.
3. Deshpande SS. *Handbook of food toxicology*. CRC Press. New York, USA, 2002, pp. 253-257.
 4. Abdelazim AA, Mahmoud A, Ramadan-Hassanien MF. Oxidative stability of vegetable oils as affected by sesame extracts during accelerated oxidative storage. *J. Food Sci. Technol.* 2013, 50: 868-878.
 5. Sultana B, Anwar F, Asi MR, Chatha SA. Antioxidant potential of extracts from different agro waste: stabilization of corn oil. *Grasas y Aceites.* 2008, 59: 205-217.
 6. Samarin A M, Poorazarang H, Hematyar N, Elhamirad A. Phenolics in potato peels: extraction and utilization as natural antioxidants. *World Appl. Sci. J.* 2012, 18: 191-195.
 7. Babbar N, Singh HO, Kaur SS, Kumar VB. Influence of different solvents in extraction of phenolic compounds from vegetable residues and their evaluation as natural sources of antioxidants. *J. Food Sci. Tech.* 2014, 51: 2568-2575.
 8. Nawal NZ, Zeitoun MAM, Barbary OM. Utilization of some vegetables and fruits waste as natural antioxidants. *Alex. J. Food Sci. Technol.* 2008, 5: 1-11.
 9. FAOSTAT database 2015. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Available at <http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/E>.
 10. Al-Weshahy A, El-Nokety M, Bakhete M, Rao V. Effect of storage on antioxidant activity of freeze-dried potato peels. *Food Res. Int.* 2013, 50: 507-512.
 11. Knoblich M, Anderson B, Latshaw D. Analyses of tomato peel and seed byproducts and the use as a source of carotenoids. *J. Sci. Food Agric.* 2005, 85: 1166-1170.
 12. Shieber A, Aranda SMD. Potato peels: a source of nutritionally and pharmacologically interesting compounds – A Review. *Food.* 2009, 3: 23-29.
 13. AOAC. Official methods of analysis of AOAC Intl. 16th ed. Methods 920.39c, 923.03, 928.08, 950.46. Association of Official Analytical Chemists. Washington, DC., 1995
 14. Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventós RM. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods of Enzymology* 1999, 299: 152-178.
 15. Scott KJ. Detection and measurement of carotenoids by UV/VIS spectrophotometry. In: *Current protocols in food analytical chemistry*. pp. F2.2.1-F2.2.10. Wrolstad RE (ed). John Wiley & Sons, Inc., New York, USA., 2001.
 16. Fish WW, Perkins-Veazie P, Collins JK. A quantitative assay for lycopene that utilizes reduced volumes of organic solvents. *J. Food Compos. Anal.* 2002, 15: 309-317.
 17. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Bio. Med.* 1999, 26: 1231-1237.
 18. Warner K, Frankel EN, Mounts TL. Flavor and oxidative stability of soybean, sunflower and low-erucic acid rapessed oils. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 1989, 66: 558-564 .
 19. AOCS. Official methods and recommended practices of the AOCS. 5th ed. Method Cd 18-90. American Oil Chemists' Society, Champaign, IL., USA., 1999.
 20. Montgomery DC. *Design and analysis of experiments*. John Wiley & Sons, New York, NY., 2003.
 21. COVENIN 2952-1: 1997. Directrices para la declaración de propiedades nutricionales y de salud en el rotulado de los alimentos envasados. Comisión venezolana de normas industriales, Venezuela, 1997.
 22. Anderson JW, Baird P, Davis RH, Ferreri S, Knudtson M, Koraym A, Waters V, Williams CL. Health benefits of dietary fiber. *Nutr. Rev.* 67:188-205.
 23. Hanson PM, Yang R, Wu J, Chen J, Ledesma D, Tsou SCS. Variation for antioxidant activity and antioxidants in tomato. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 2004, 129: 704-711.
 24. Mohdaly AAA, Sarhan MA, Smetanska I, Mahmoud, A. Antioxidant properties of various solvent extracts of potato peel, sugar beet pulp and sesame cake. *J. Sci. Food Agric.* 2010, 90: 218-226.
 25. Repetto M, Semprine J, Boveris A. Lipid peroxidation: Chemical Mechanism, Biological Implications and Analytical Determination. pp. 3-30. In: *Biochemistry, Genetics and Molecular Biology*. A. Catala (ed). InTech Publisher, Rijeka, Croatia, 2012.
 26. Tomkins C, Perkins EG. The evaluation of frying oils with p-Anisidine value. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 1999, 76: 945-947.

Recibido: 11-10-2015

Aceptado: 31-12-2015

Composición química de harina de calamar gigante *Dosidicus gigas*

Ma. de la Concepción Calvo, Ma. Elena Carranco, César A. Salinas, Silvia Carrillo.

Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR), La Paz, Baja California Sur.
Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán. D.F. México. México.

RESUMEN: El potencial de uso de la harina de calamar gigante (*Dosidicus gigas*) (HCG) como alternativa en el desarrollo de productos con valor agregado es relevante. Sin embargo hace falta conocer los elementos químicos que la conforman. El objetivo de este trabajo fue determinar la composición química de la harina de calamar gigante (*Dosidicus gigas*) procedente de Guaymas, Sonora, México y su posible alternativa para el desarrollo de alimentos funcionales. Los resultados indicaron un alto contenido de proteína (77,7%), sobresaliendo lisina y ácido glutámico (10,16 y 14,53 g aa/100g proteína respectivamente), aminoácidos azufrados y aminoácidos hidrofóbicos. El contenido de la fracción grasa (6,3%) fue bajo así como el de fibra cruda (2,7%), reportada como quitina, reflejándose en el bajo aporte calórico (4 kcal/g). La relación entre ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados fue de 1,66:1:1,08 y de n6:n3 fue de 1:1,35. Se concluye que HCG es un ingrediente con posibilidades de uso en panificación, galletas saladas, sazonadores, aderezos, a los que les podría dar un valor agregado. Sin embargo el factor limitante para su uso está en el olor y sabor a pescado, por lo que su aplicación se sugiere dirigir la aplicación hacia el desarrollo de nuevos productos vinculados con preparaciones típicas que incluyan pescados y derivados.

Palabras clave: Harina de calamar gigante, análisis químicos, alternativas de uso.

SUMMARY: Chemical composition of giant squid *Dosidicus gigas* meal. The potential use of giant squid (*Dosidicus gigas*) meal (GSM) as an alternative in the development of value-added foods may be relevant. However one must know the chemical elements that constitute it. The aim of this study was to determine the chemical composition of giant squid *Dosidicus gigas* meal from Guaymas, Sonora, Mexico and its possible alternative for the development of functional foods. The data indicated a high protein content (77,7%), lysine and glutamic acid (10,16 and 14,53 g aa/100g protein respectively), sulfur amino acids and hydrophobic amino acids. The content of fat fraction (6,3%) was low and crude fiber (2,7%) reported as chitin, reflected in the low calorie (4 kcal/g). The ratio of saturated, monounsaturated and polyunsaturated fatty acids was 1,66: 1: 1,08 and n6: n3 was 1: 1,35. It is concluded that GSM is an ingredient with potential for use in bread, crackers, seasonings, dressings, which could give them added value. However the limiting factor for use is in the smell and taste of fish, so that its application would be directed at the development of new products related with typical preparations that include fish and derivatives.

Key words: Giant squid meal, chemical analysis, alternative use.

INTRODUCCIÓN

Debido al alto índice de crecimiento demográfico, actualmente se llevan a cabo investigaciones sobre el uso de proteínas no convencionales para consumo humano y animal con el fin de poder satisfacer las necesidades de este nutrimento en las poblaciones de pocos recursos. Dentro de los alimentos no convencionales están los productos de origen marino (calamar, langostilla, algas marinas, etc.) así como los subproductos de la industrialización de éstos como las

cabezas de camarón, vísceras, escamas, huesos y aceites, todos ellos ricos en nutrimentos que podrían ser utilizados en forma de harina, pastas o ensilados para el desarrollo de productos para consumo humano.

Uno de estos alimentos no convencionales es la harina de calamar gigante *Dosidicus gigas*. Ésta es una especie oceánica y migratoria del Pacífico Oriental que se distribuye desde Monterey, California (EUA) hasta el norte de Chile. De las especies de calamar el *Dosidicus gigas* se explota en forma comercial en

México y su captura se registra de manera oficial en el Golfo de California. Desde los 14 a 19 meses de edad, el calamar alcanza tallas superiores a los 70 cm de longitud en el manto (LM) aunque en las capturas predominan individuos con una LM de 30 a 45 cm (1).

La captura del calamar gigante en los últimos años ha sido abundante e importante como recurso dentro del sistema productivo pesquero en México, reportándose para el año 2014 la captura de 40,878kg en peso vivo en Guaymas, Sonora (2).

A inicios de la década de los 90's la política pesquera en México tuvo efectos directos en la captura del calamar gigante. Los cambios realizados en 1994 tuvieron repercusiones en el sistema productivo pesquero: en ese año solo se permitió la explotación del recurso por parte de las flotas regionales mexicanas y se estableció de manera regular. Sin embargo, la falta de un mercado interno consolidado definió esquemas de dependencia hacia el mercado externo. Esto no sorprendió ya que desde los 60's la captura del calamar gigante ha estado asociada a los requerimientos del mercado exterior y a grandes consumidores como Japón y Corea (3).

En general se aprovecha aproximadamente el 89.13 % del calamar (48 % manto, 10.14 % cabeza, 16.34 % tentáculos y 14.65 % aletas) siendo el 10.86 % de vísceras. Al ser un alimento de origen marino su valor nutrimental se considera bueno, destacándose el contenido de proteínas de fácil digestión (digestibilidad = 94%), carbohidratos no asimilables, vitaminas A, D y complejo B, bajo contenido graso y calórico (1,16).

Existe información sobre la ecología, biología, reproducción y distribución del calamar gigante (*Dosidicus gigas*), así como de la composición química de las diferentes partes del calamar (manto, tentáculos, cabeza, aleta y vísceras) y entero. Sin embargo, sobre la harina de calamar completa (manto, cabeza, tentáculos, aleta, pluma y vísceras) hay poca información (4,5).

Por lo antes descrito, el objetivo de esta investigación fue determinar la composi-

ción química de la harina de calamar gigante (*Dosidicus gigas*) entero (manto, tentáculos, vísceras, pluma y boca), para establecer el posible uso de este recurso no convencional en el desarrollo de productos con valor agregado.

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención, recepción y almacenamiento de la harina de calamar gigante (HCG).

El calamar utilizado fue capturado a mediados del mes de mayo, frente a las costas de Santa Rosalía, Baja California Sur, se transportó a Hermosillo, Sonora en donde se congeló y almacenó en cuartos fríos (-26°C) hasta su proceso de secado (16). El procedimiento empleado en su preparación se presenta en la Figura 1. Se recibieron 50 paquetes de HCG de 1 kg c/u en el Departamento de Nutrición Animal

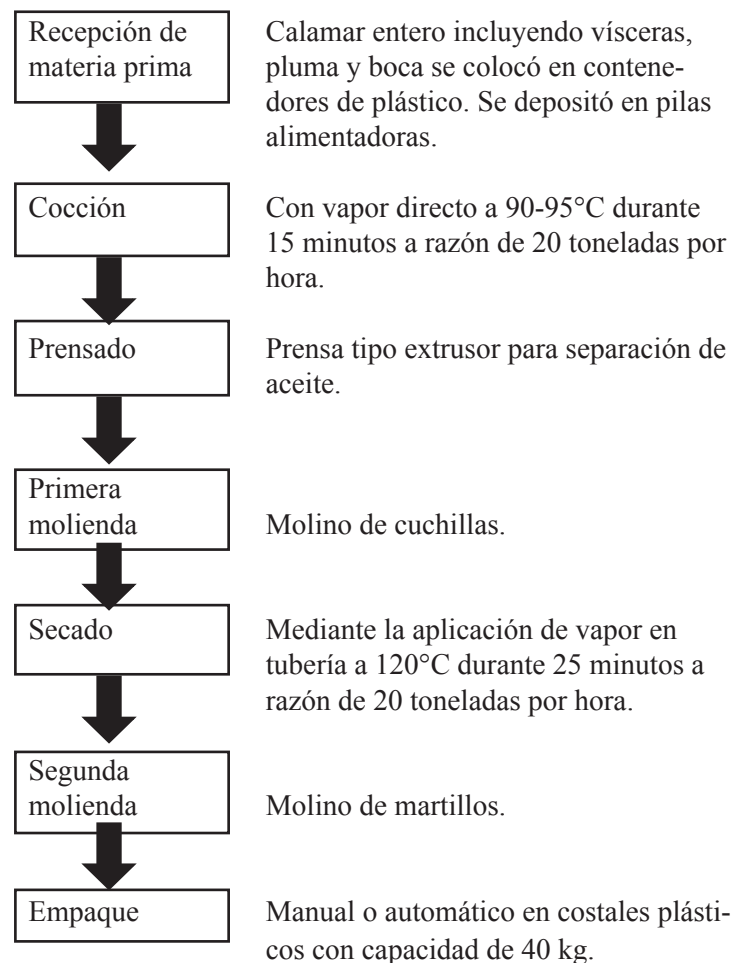


FIGURA 1. Diagrama del proceso para la obtención de harina de calamar gigante (*Dosidicus gigas*).

“Dr. Fernando Pérez-Gil Romo” del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán y se mantuvieron en refrigeración (-20°C) hasta su análisis.

Análisis químico.

Se llevaron a cabo de acuerdo con los métodos estandarizados descritos en AOAC(6): humedad (método 950.46), cenizas (método 938.08), extracto etéreo (método 920.39), fibra cruda (método 985.15) y proteína cruda (método 978.04). Energía bruta se determinó utilizando Bomba Calorimétrica Parr® (ParrInstrument Company® Inc., Moline, Illinois).

Análisis microbiológico.

Cuenta de bacterias aerobias en placa. Medio de Cultivo: Agar Triptona-Extracto de Levadura (agar para cuenta estándar) (7); Coliformes totales: Prueba presuntiva con medio de cultivo caldolactosado incubando a 35°C/48 horas (8); Prueba confirmativa con medio de cultivo caldo lactosa lauril bilis verde brillante, incubando 35°/48 horas; Coliformes fecales: Prueba presuntiva con caldo lauril sulfato triptosa incubando a 35°C/48 horas (9); Prueba confirmativa con medio de cultivo caldo EC incubando a 44,5°C/24-48 horas y medio de cultivo lactosa bilis verde brillante y agua peptonada incubando a 44,5°C/24-48 horas; *Salmonella* sp. Medios selectivos y diferenciales: agar XLD (xilosa-lisina-desoxicolato); agar VB (verde brillante) y agar SB (sulfito de bismuto) incubando a 35°C/24 horas (10) y *Escherichia coli*: Prueba presuntiva con medio de cultivo caldo lauril incubando a 35°C/24 horas. Prueba confirmatoria con medio de cultivo caldo EC incubando a 44,5°/24-48 horas y Agar Mac Conkey mismas condiciones de incubación (9).

Perfil de aminoácidos.

La muestra de HCG se hidrolizó con fenol y HCl 6N para posteriormente derivatizarla con un buffer de fosfatos y 6-aminoquilonil-N-hidroxisuccimonilil carbamato (reactivo derivatizante AccQ-tag® fluor), convirtiendo los aminoácidos primarios (son la secuencia lineal específica (sin ramificaciones) de aminoácidos de una cadena polipeptídica) y secundarios (consiste en el enrollamiento de la cadena peptídica sobre su propio eje para formar una hélice o alguna otra estructura tridimensional específica) en derivados estables de ureas que fluorescen fuertemente a 395 nm. Los estándares se derivatizaron de igual manera que la

muestra. Condiciones HPLC (Waters modelo 2475): se empleó una columna AccQ-Tag® de alta eficiencia Nova-Pak® C18 de 4 µm, fase móvil con eluyente A: buffer WATERS AccQ-TAG®; eluyente B: acetonitrilo y eluyente C: Agua MILLI-Q® grado HPLC, tiempo de corrida 60 min, detector fluorescencia Waters® 470 nm, temperatura de columna 37°C y volumen de inyección 5 µL continuando con el procedimiento analítico descrito en el Manual Operativo de Waters No. WAT052874 para esta columna.

Colesterol.

Se determinó por saponificación directa según el método descrito por Jianget al.(11) utilizando 5α-colestano, estándar de colesterol (Sigma Chemical Co®.), etanol absoluto, hexano, sulfato de sodio anhidro y heptano grado HPLC (J. T. Baker®). Se cuantificó el colesterol en un cromatógrafo de gases Varian 3800®, con una columna capilar DB-5® de 3 m de longitud, 0,25 mm DI y 0,25 micras de película; inyector (260°C), columna (180°C inicial), aumentar 4°C/min hasta 280°C y mantener 2,4 min., detector (280°C), Nitrógeno como gas acarreador, tiempo de corrida 5 min.

Lípidos totales.

Se determinaron siguiendo el método AOAC923.07 (6); llevando a cabo una extracción con cloroformo:etanol 1:1 v/v (J.T. Baker®).

Perfil de ácidos grasos.

Se analizaron por cromatografía de gases de acuerdo al método 969.33 (6). El extracto obtenido de la cuantificación de lípidos totales se sometió a una saponificación y posteriormente a una metilación con trifluoruro de boro (Sigma Chemical Co.®) para la obtención de los ésteres metílicos de los ácidos grasos. Éstos se cuantificaron en un cromatógrafo Varian 3800®, con una columna capilar DB-FFAP® de 30m de longitud, 0,25 mm ID y 0,25 micras de película. Las condiciones de temperaturas del cromatógrafo fueron: inyector 150°C, columna 230°C, detector 300°C. Se utilizó nitrógeno como gas acarreador (30 mL/min.), tiempo de corrida 35 minutos y el estándar interno fue el ácido miristoléico. El contenido de ácidos grasos, expresados en porcentaje, fue calculado de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\% = \frac{\text{área pico ácido graso} \times \text{concentración estándar interno}}{\text{Área pico estándar interno} \times \text{peso muestra}}$$

Para calcular la relación n-6 : n-3, se divide el total

de la suma de los ácidos grasos n-6 entre el total de ácidos grasos n-3.

Análisis estadístico.

Los resultados se expresan en términos de la media y la desviación estándar de al menos 3 determinaciones independientes.

RESULTADOS

El rendimiento obtenido durante el proceso del calamar fresco hasta harina fue aproximadamente de 20-25%.

En la HCG fue notable el alto contenido de proteína cruda (77,76%), seguido por cenizas (8,54%), extracto etéreo (6,33%), fibra cruda (2,7%) correspondiente a quitina y carbohidratos totales (1,21%). El contenido energético fue de 4 kcal/g (Tabla 1).

En cuanto a la cuenta microbiana, la interpretación de los resultados se llevó a cabo de acuerdo a lo establecido en la NOM-242-SSA1 (12), indicando que esta HCG presentó baja cuenta en coliformes totales, fecales y de *Escherichia coli*, así como la ausencia de *Salmonella sp.*

El perfil de aminoácidos comprende los esenciales y los no esenciales. En el caso de los primeros la lisina (10,6 g aa/100g proteína) mostró los valores más altos, mientras que en el segundo fue el ácido glutámico (14,53 g aa/100g proteína). El contenido de aminoácidos hidrofóbicos estuvo entre 5,16 y 7,57 g aa/100g proteína sobresaliendo prolina y glicina (Tabla 2).

El contenido de lípidos fue bajo (5,48%) y esto se debió a que, como parte del proceso de acondiciona-

TABLA 1. Composición proximal (g/100g) y análisis microbiológico de la harina de calamar gigante (*Dosidicus gigas*).

Harina de calamar gigante (HCG)	
Humedad	3,46 ± 0,002
Proteína cruda (N x 6,25)	77,76 ± 0,04
Cenizas	8,54 ± 0,002
Extracto etéreo	6,33 ± 0,007
Fibra cruda	2,7 ± 0,001
Carbohidratos por diferencia	1,21
Energía bruta (kcal/g)	4,03 ± 0,02
Análisis Microbiológico	
Bacterias mesófilas aerobias (UFC/g)*	1.300,000
Coliformes totales (NMP/g)**	7,7
Coliformes fecales (NMP/g)*	0,5
<i>Salmonella sp.</i> (25g)*	Ausente
<i>Escherichia coli</i> (NMP/g)*	< 0,3

*UFC: Unidades Formadoras de Colonias.

**NMP: Número más Probable.

Los valores reportados representan el promedio ± la desviación estándar de seis repeticiones.

miento del calamar para su secado, se extrajo una parte de la grasa. La HCG contiene ácidos grasos saturados (AGS) siendo el palmítico el de mayor concentración (26,06%). De los ácidos grasos monoinsaturados (AGMI) el oleico fue el predominante (11,87%) y de

los ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) sobresalió el ácido docosahexaenoico (DHA) (10,10%) (Tabla 3). Se destacó el contenido de los n-3: α -linolénico, ácido eicosapentaenoico (EPA), ácido docosapentaenoico (DPA) y DHA con un total de 18,74%, mientras que para n6 (linoleico, araquidónico y DPA) fue de 5,51%. Correlacionando ambos datos la relación n6:n3 fue de 1:3,4 (Tabla 4).

TABLA 2. Composición de aminoácidos (g aa/100 g proteína) en harina de calamar gigante (*Dosidicus gigas*)

g aa/100 g proteína			
Aminoácidos esenciales		Aminoácidos no esenciales	
Isoleucina	4,26 ± 0,01	Cistina	2,12 ± 0,03
Leucina	6,56 ± 0,02	Tirosina	4,22 ± 0,02
Lisina	10,16 ± 0,03	Arginina	3,86 ± 0,02
Metionina	1,64 ± 0,01	Alanina	6,79 ± 0,03
Fenilalanina	4,56 ± 0,02	Ácido aspártico	9,53 ± 0,01
Treonina	3,86 ± 0,02	Ácido glutámico	14,53 ± 0,02
Valina	5,40 ± 0,03	Glicina	7,57 ± 0,03
Histidina	6,89 ± 0,03	Prolina	5,16 ± 0,03
Triptófano	2,0 ± 0,03	Serina	3,42 ± 0,02

Los valores reportados representan el promedio ± la desviación estándar de seis repeticiones.

TABLA 3. Resultados de lípidos totales, colesterol y composición de ácidos grasos en harina de calamar gigante (*Dosidicus gigas*)

Lípidos totales (g/100g muestra)	5,48 ± 0,31
Colesterol	Nd
Ácidos grasos (% Total de ácidos grasos)	
Laurico (C12:0)	0,21 ± 0,04
Mirístico (C14:0)	3,81 ± 0,24
Pentadecanoico (C15:1)	0,72 ± 0,03
Palmitico (C16:0)	26,06 ± 0,69
Palmitelaidico (C16:1)	0,12 ± 0,00
Palmitoleico (C16:1)	4,48 ± 0,08
Heptadecanoico (C17:0)	1,22 ± 0,03
Cis10-heptadecenoico (C17:1)	0,36 ± 0,10
Esteárico (C18:0)	8,93 ± 0,22
Oleico (C18:1 n-9)	11,87 ± 0,07
Cis-vaccenico (C18:1)	3,06 ± 0,06
Linoleico (C18:2 n-6)	3,49 ± 0,08
t9, t12, t15 (C18:2)	0,31 ± 0,02
Gama-linoleico (C18:3)	0,26 ± 0,02
Alfa-linolénico (C18:3 n-3)	0,49 ± 0,01
CLA c9,t11 y c11,t9 (C18:2)	0,52 ± 0,10
Araquídico (C20:0)	0,48 ± 0,03
CLA otros (C18:2)	0,24 ± 0,01
Eicosenoico (C20:1)	4,06 ± 0,04
Cis-11,14-eicosadienoico (C20:2)	0,73 ± 0,00
Cis-11,14,17 eicosatrienoico (C20:3)	0,22 ± 0,03
Cis-8,11,14-eicatrienoico (C20:3)	0,17 ± 0,00
Araquidónico (C20:4 n-6)	1,60 ± 0,03
Heneicosanoico (C21:0)	0,29 ± 0,01
Eicosapentaenoico (EPA) (C20:5 n-3)	6,90 ± 0,20
DPA (C22:5 n-6)	0,42 ± 0,03
DPA (C22:5 n-3)	1,25 ± 0,07
Docosahexaenoico (DHA) (C22:6 n-3)	10,10 ± 0,16
Otros ácidos	7,62 ± 1,10

Los valores reportados representan el promedio ± la desviación estándar de tres repeticiones.

Nd = No detectado.

TABLA 4. Distribución de los ácidos grasos (g/100g) y su relación n-6:n-3 en harina de calamar gigante (*Dosidicus gigas*)

Total ácidos saturados	0,41 ± 1,21
Total ácidos monoinsaturados	0,24 ± 0,10
Total ácidos polinsaturados	0,26 ± 0,21
n-6:n-3	1:3,40

Los valores reportados representan el promedio ± la desviación estándar de tres repeticiones.

DISCUSIÓN

Debido al excedente que llega a presentarse en la captura del calamar y considerando su alto valor proteico éste puede emplearse como complemento en la formulación de alimentos de consumo. Siendo la calidad de los productos de origen marino una fuerza impulsora de la industria pesquera, se hace necesario el uso de alternativas de procesos que reduzcan las reacciones de descomposición y deterioro biológico, físico y químico.

Una de éstas es someter al calamar a un proceso de secado para obtener harina. La transformación de calamar fresco en harina de buena calidad y bajo costo es una de las metas que se buscan en la industria de alimentos, principalmente por su facilidad de manejo, más tiempo de vida de anaquel y mejor integración en las formulaciones de alimentos. El procesamiento para la obtención de harina de calamar puede ser térmico, de enfriamiento, secado, adición de productos químicos (conservadores), fermentación, irradiación, etc. El más común de estos métodos es el térmico que se lleva a cabo para destruir e inactivar los microorganismos e inactivar las enzimas endógenas responsables de reacciones hidrolíticas y oxidativas, permitiendo que la reducción del contenido de humedad del producto asegure un período de almacenamiento prolongado (13).

Bajo las condiciones de secado empleadas en el proceso, se desnaturalizaron las proteínas y se inactivaron las enzimas, el volumen del producto disminuyó y su manejo y almacenamiento se facilitaron. En relación con los cambios que se presentan durante el secado Vega-Gálvez et al. (13) publicaron los resultados de una investigación que tuvo como objetivo determinar la influencia de la temperatura del aire sobre el color, rehidratación, capacidad antioxidante y textura durante una deshidratación por convección a temperaturas entre los 50 y 90°C de filetes de calamar gigante. Los resultados reportados fueron: la desnaturalización de proteínas que favoreció el incremento en la coloración del producto final conforme aumentaba la temperatura, debido a un oscurecimiento no enzimático, aunado al incremento en la formación de enlaces disulfuro (S-S) y la reacción de los grupos ε-NH₂ de la lisina con los productos de oxidación de lípidos, carbohidratos reductores y otros grupos amida, provocando la pérdida de solubilidad, disminución de

la capacidad gelificante y actividad antioxidante del músculo del calamar fresco. Sin embargo estas características funcionales también se ven afectadas ante el riesgo microbiológico que presenta la muestra fresca (14). Soriano (15) reportó cambios similares en las propiedades funcionales, capacidad emulsificante y de gelificación en pescado secado al sol.

El secado presenta varios beneficios antes mencionados pero además se reduce el riesgo de que se produzcan olores y sabores desagradables. El secado hasta bajos niveles de humedad en el producto final como el aplicado en este estudio destruye toda la carga microbiana presente, lo que permite un almacenamiento, ya sea en refrigeración o a temperatura ambiente, para posteriormente ser incorporada con otras harinas para la elaboración de diferentes productos alimenticios.

Otra alternativa de uso del calamar fresco es la obtención de aislados proteínicos empleando solamente el manto limpio, molido y conservado por congelación, desechando el resto del cefalópodo (13, 16).

De acuerdo con los datos obtenidos, bajo las condiciones llevadas a cabo en este estudio, el análisis químico realizado a la HCG confirma que es una buena fuente de proteína (77,76%). Ochoa (17) reportan para calamar gigante un contenido de 78,50%, sin embargo no indican si la muestra corresponde a calamar completo o si solo es el manto. En la tabla de composición de alimentos publicada en México se reportan un contenido de proteína de 82,82 % (base seca) (18) que corresponde a muestra fresca de calamar. En este estudio al calcular el contenido de proteína en base seca los valores oscilan entre 82,83-88,54%, similar a lo reportado por Chávez et al. (18). Los factores que pueden justificar las diferencias entre los datos analíticos presentes en este estudio y lo reportado por los autores antes mencionados pueden ser la especie de calamar, la temporada de captura, la parte analizada y el manejo de la muestra.

La calidad de una proteína se establece de acuerdo con el contenido y proporción de aminoácidos esenciales vinculada con la eficiencia en la conversión proteínica (ECP). En este estudio no se llevaron a cabo las pruebas de PER (Razón de eficiencia proteica) y NPU (Utilización neta de la proteína) por lo que, para discutir los resultados de aminoácidos, éstos se compararon con el contenido de aminoácidos esenciales de la proteína de referencia que sirve para el cálculo de

la ECP con los datos obtenidos para HCG y se observó que en esta harina de calamar son mayores, sobresañando el contenido de lisina, histidina, aminoácidos azufrados y aromáticos. Si se comparan estos valores con la composición de aminoácidos esenciales de las proteínas presentes en la leche y en el huevo, la HCG llega a ser similar, a excepción de lisina e histidina mayor en leche y en huevo mayor cantidad de valina e isoleucina. Por ello, se presenta la posibilidad de emplear la HCG en la formulación de alimentos, ya sea total o parcialmente, para incrementar el contenido de proteína y aminoácidos, que dependerá del producto a desarrollar (19).

Sin embargo, si se llega a utilizar la HCG como parte en la elaboración de algún alimento, esta se puede combinar con cereales cuyo contenido de proteína es bajo y llegan a tener deficiencias en algunos aminoácidos esenciales (lisina), se puede ampliar el aporte proteínico y mejorar su calidad, de esta manera se puede incrementar la concentración de ese aminoácido y favorecer la generación de color a través de la reacción de Maillard al elaborar masas que podrían ser horneadas. Sin embargo, el factor limitante se encuentra en el sabor y olor a pescado que la HCG puede proporcionar al nuevo producto, por lo que el reto radica en diseñar alimentos que combinen con pescado y derivados.

Ejemplo de esta sugerencia es la inclusión de HCG en productos de panificación salados y para galletas tipo "croûton", donde a pesar de la reducción de lisina por su participación en la reacción de Maillard, el producto de panificación tendrá un aporte nutricional superior a los elaborados exclusivamente con harinas de cereales. Como la HCG tiene un alto contenido de ácido glutámico, y al considerarse a éste como un potenciador de sabor, además del bajo contenido de grasa, también se presenta la posibilidad de usarla en la elaboración de sazónadores, empanizadores y aderezos.

En relación con los resultados del análisis microbiológico de HCG de coliformes totales, fecales, *E. coli* y *Salmonella* sp, éstos se discuten de acuerdo a los estándares de referencia mencionados en la NOM-242-SSA1-2009 (12), encontrando que la HCG tuvo un manejo adecuado desde la captura del calamar hasta su proceso de secado, por lo que se puede utilizar en la formulación de alimentos con valor agregado sin

que sea un riesgo desde el punto de vista bacteriano.

Los datos de lípidos totales confirman el bajo contenido de esta fracción, donde más del 40% son ácidos grasos saturados y el resto corresponde casi en la misma proporción a ácidos grasos mono y poliinsaturados (1,66:1:1,08). Dentro del grupo de los n-9 predominaron el ácido oleico, seguido de los n-3 y finalmente los del grupo n-6.

Los ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) son considerados esenciales ya que el hombre no está capacitado para llevar a cabo las reacciones de desaturación, por lo que deben consumirse en la dieta. Estos AGPI forman parte de los llamados eicosanoicos (C20) que constituyen grupos de compuestos con actividad fisiológica y farmacológica, como las prostaglandinas, tromboxanos, leucotrienos y lipoxinas (20). También constituyen parte de los componentes de la membrana celular, son precursores de neurotransmisores, así como de productos finales asociados con la salud. Sin embargo, como lo menciona Simopoulos (21), actualmente en la dieta se han incorporado mayores cantidades de calorías, ácidos grasos trans, grasas saturadas, AGn-6 y un menor consumo de AGn-3 y fibra. Asimismo, ha disminuido la ingesta de proteínas, antioxidantes y calcio. Es importante citar la relación que debe haber entre los ácidos grasos n-6:n-3 (2:1) ya que desde el punto de vista nutricional este equilibrio se ha perdido, debido al alto consumo de n6. Actualmente esta proporción es de 10:1 a 20–25:1 contrarrestando los beneficios cardiovasculares de los n-3. En HCG la relación encontrada entre n6:n3 fue de 1:3,40, acercándose a la propuesta sugerida por Simopoulos (21).

Debido al bajo contenido de lípidos totales, no se detectó colesterol a través de la técnica de cromatografía de gases utilizada en este trabajo, posiblemente por lo cercano que estuvo del límite de detección. Por lo que se sugiere utilizar una técnica más sensible para cuantificarlo.

La HCG tuvo un contenido de fibra cruda de 2,7% y de extracto libre de nitrógeno de 1,21%. Sin embargo los datos que reportan tablas de composición de alimentos de otros países hacen hincapié de que los resultados reportados son de calamar fresco y oscilan entre 0,27 – 1,50%. La fibra que se reporta corresponde a la quitina y quitosano que se localizan, principalmente en la pluma del calamar. Estos compuestos tienen una función similar a la fibra dietética en el

organismo humano y los efectos reportados de estos compuestos son: actividad antitumoral, mejoras en el sistema inmunológico, actividad antifúngica y antimicrobiana y presentan un efecto reductor de niveles de LDL-colesterol en hígado y sangre (22). Esto puede ser un punto más a favor para utilizar la HCG en formulaciones de alimentos.

Por su bajo contenido de lípidos, el aporte de energía bruta de la HCG es bajo (4,03 kcal/g), siendo similar a lo reportado por Hulanet al. (23) en harina del calamar *Illexillecebrosus* (4,13 kcal/g).

CONCLUSIONES

Los resultados del presente estudio demuestran que la harina de calamar gigante (*Dosidicus gigas*), por su composición química, principalmente por su alto contenido de proteína y aminoácidos azufrados, se puede utilizar en la elaboración de diversos productos con valor añadido tales como barras de pan, galletas saladas, pastas, aderezos, embutidos, sopas instantáneas, los cuales darían nuevas opciones alimenticias para el consumidor con un perfil nutricional mejorado.

REFERENCIAS

1. Luna, R.M.C., Urciaga, G.J.I., Salinas, Z.C.A., Cisneros, M.M.A. & Beltrán, M.L.F. Diagnóstico del consumo del calamar gigante en México y Sonora. Economía, Sociedad y Territorio, 2006; VI (22), 535-560.
2. CONAPESCA. Comisión Nacional de Acuacultura y Pesca. Anuario Estadístico de Pesca, Conapesca, México. 2015. Disponible en: http://www.conapesca.sagarpa.gob.mx/wb/cona/anuario_2008. Fecha de referencia 25 Mayo 2015.
3. De la Cruz-González, F.J., Aragón-Noriega, E.A., Urciaga-García, J.I., Salinas-Zavala, C.A., Cisneros-Mata, M.A. & Beltrán-Morales, L.F. Análisis socioeconómico de las pesquerías de camarón y calamar gigante en el Noroeste de México. Interciencia. 2007; 32(3): 144-150.
4. Nigmatullin, Ch.M., Nesis, K.N. & Arhipkin, A.I. (2001). A review of the biology of the jumbo squid *Dosidicus gigas* (cephalopoda: ommastrephidae). Fisheries Research. 2001; 54: 9–19.
5. Markaida, U., Rosenthal, J.J.C. & Gilly, W.F. Tagging studies on the jumbo squid (*Dosidicus gigas*) in the Gulf of California, Mexico. Fisheries Bulletin. 2005; 103: 219–226.
6. AOAC. Official Methods of Analysis of the Association of Official Agricultural Chemists. AOAC International, Gaithersburg, Maryland, USA. 2005.

7. NOM-092-SSA1-1994. Norma Oficial Mexicana. Bienes y Servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa. México, D.F. 1994.
8. NOM-112-SSA1-1994. Norma Oficial Mexicana. Bienes y Servicios. Determinación de bacterias coliformes. Técnica del número más probable. México, D.F. 1994.
9. NOM-145-SSA1-1995. Norma Oficial Mexicana. Bienes y Servicios. Productos cárnicos troceados y curados. Productos cárnicos curados y madurados. Técnica de diluciones en tubo múltiple. Coliformes fecales y E coli. México, D.F. 1995.
10. NOM-114-SSA1-1994. Norma Oficial Mexicana. Bienes y Servicios. Método para la determinación de Salmonella en alimentos. México D.F. 1994.
11. Jiang, Z., Fenton, M. & Sim, J.S. Comparison of four different methods for egg cholesterol determination. *PoultrySci.* 1991; /0(4): 1015-1019.
12. NOM-242-SSA1-2009. Norma Oficial Mexicana, Productos y servicios. Productos de la pesca frescos, refrigerados, congelados y procesados. Especificaciones sanitarias y métodos de prueba. México D.F. 2009.
13. Vega-Gálvez, A., Miranda, M., Clavería, R., Quispe, I., Vergara, J., Uribe, E., Paez, H. & DiScala, K. Effect of air temperature on drying kinetics and quality characteristics of osmo-treated jumbo squid (*Dosidicus gigas*). *Food Sci Tech.* 2011; 44: 16-23.
14. Félix-Armenta, A., Ramírez-Suárez, J.C., Pacheco-Aguilar, R., Díaz-Cinco, M.E., Cumplido-Barbeitia, G. & Carvallo-Ruiz, G. Jumbo squid (*Dosidicus gigas*) mantle muscle gelled-emulsified type product: formulation, processing and physicochemical characteristics. *Int J FoodSciTech.* 2009; 44: 1517-1524.
15. Soriano, S.J. Calidad nutricional del pescado de mar. En: Tecnología de productos de origen acuático. Guerrero, L.I., Rosmini, M.R. y Armenta R.E (eds.). México D.F. Limusa S.A. de C.V. 2009. 185-202.
16. Martínez-Vega, J.A., Cruz-Suárez, L.E. & Rique-Marie, D. Composición corporal y proceso de secado del calamar gigante *Dosidicus gigas*. Disponible en: www.umar.mx/revista/11/dosidicus.pdf (fecha de referencia: 12/07/2014).
17. Ochoa, T.D. Martínez-Vega, J.A., Cruz-Suárez, L.E. & Rique-Marie, D. Composición corporal y proceso de secado del calamar gigante *Dosidicus gigas*. Disponible en: www.umar.mx/revista/11/dosidicus.pdf (fecha de referencia: 12/07/2014).
18. Chávez, V.A., Ledesma, S.J.A., Mendoza, M.E., Calvo, C.C., Castro, G.M.I., Ávila, C.A., Sánchez, C.C.P. & Pérez-Gil, R.F. Tablas de uso práctico de los alimentos de mayor consumo. 3ª. Ed. McGraw-Hill. 2014
19. Bourges, R.H., Torres, N. & Tovar, A.R. Proteínas y aminoácidos. En Bourges, H., Casanueva, E. & Rosado, J.L. (eds.) Recomendaciones de Ingestión de Nutrientes para la Población Mexicana, Bases Fisiológicas. Editorial Médica Panamericana, Tomo 2. 2008.
20. Murray, R.K., Bender, D.A., Botham, K.M., Kennelly, P.J., Rodwell, V.W. & Weil, P.A. Harper Bioquímica Ilustrada. Editorial Ed. McGraw-Hill. México. 2012.
21. Simopoulos, A.P. Evolutionary Aspects of Diet: The Omega-6/Omega-3 Ratio and the Brain. *MolNeurobiol.* 2011; 44: 203-215.
22. Kim, S.K. & Mendis, E. Bioactive compounds from marine processing by-products- A review. *Food Res Int.* 2006; 39(4): 383-393.
23. Hulan, H.W., Proudfoot, F.G. & Zarkadas, C.G. The nutritional value and quality of squid (*Illex illecebrosus*) meal as source of dietary protein for broiler chicken. *British J Nutr.* 1979; 41: 163-173.

Recibido: 09-09-2015
 Aceptado: 24-11-2015

Cartas al Editor

Will boron be essential for human nutrition?

Anacleto Sosa Baldivia, Guadalupe Ruiz Ibarra, and Jorge D. Etchevers Barra.

Nutrilit S de RL de CV. Instituto Tecnológico Superior de Tamazula de Gordiano, Jalisco, México. Colegio de Postgraduados (COLPOS). Instituto de Recursos Naturales (IRENAT). Montecillos, Estado de México.

The importance of boron (B) as a micronutrient for vascular plants was proven by Katherine Warrington in 1923 (1). Soon after this discovery, researchers also began to study whether B is essential for animal and human nutrition. Currently, the importance of B for human nutrition is not accepted or proven within the scientific community, and therefore continues to be in question. The first evidence that B could be an essential micronutrient for humans was presented by Dr. Rex Newnham at the International Symposium on Trace Elements in Man and Animals⁴ (TEMA⁴) held in Perth, Australia in 1981 (2). This author claimed that ingesting 6 mg B day⁻¹ of sodium tetraborate could alleviate arthritic pain. In addition, Newnham et al. (3) reported that in countries with B intakes around 3 mg B day⁻¹ or less such as Jamaica and Mauritius, the incidence of arthritis is near to 70%. However in countries such as Israel, Australia, and New Zealand where the B intakes is equal or higher than 6 mg B day⁻¹, the incidence of arthritis on the population were absent or the incidence rate was less than 1%. With these results, he hypothesized that B is an important micronutrient for human metabolism. Recently published research reported that people older than 40 years of age can prevent and/or correct arthritis, osteoporosis, osteoarthritis, cancer (cervical and prostate) and cardiovascular diseases by taking B equal to or higher than 3 mg day⁻¹ (4,5). This scientific finding is in agreement with what occurs with populations from Italy, Cyprus, and Turkey; in these countries the feeding is based on the famous healthy Mediterranean diet that includes staple foods rich in B such as grape, broccoli, garlic, tomato, pomegranate and olives combined with the consumption of drinking water with high levels of B, which frequently results in intakes of B higher than 13 mg day⁻¹ person⁻¹ (6). Several researchers (7,8) agree that in these countries, the high B intake

explains why their population has been considered the healthiest in the world, especially those from Tuscany, Italy. There are three main sources that supply B for humans: 1).- Drinking water; 2).- Vegetable foods (mainly fruits and vegetables); and 3).- Products daily used for personal care (soaps, lipsticks, shampoo, skin cream, gastric antacids, cosmetics, detergents, contraceptives and estrogen supplements) (9,10,11). These sources, on average, supply around of 0.6, 1.0, and 0.5 mg B day⁻¹ person⁻¹, respectively (6,11). Two sources of B that has been important since 1990 on the daily life of humans are supplements and nutraceuticals, which can supply between 3 and 10 mg B day⁻¹ (12). Most supplements contain B as inorganic compounds in the form of sodium tetraborate and boric acid as active ingredient (13). While nutraceuticals are produced using crops such as grape, broccoli, plum, peach, pomegranate and tomato that accumulate B into organic forms such as fructoborates, amino acid ester borates, polyphenols and peptic polysaccharide borate complex, that are organic sources of B which are highly bioavailable (12), as well as beneficial metabolites and phytonutrients which help to maintain human health (14, 15, 16,17). The essentiality of B in humans is not yet widely accepted, but the scientific information indicates that to ensure an adequate nutrition, humans require between 2 and 6 mg B day⁻¹ person⁻¹ (2,18). In light of this evidence, countries such as Australia, England and USA where B intakes are lower than the sufficiency level have permitted sales of supplements and nutraceuticals that contain B in order to ensure that the population can meet their daily B requirements (6). Although there is evidence from the countries discussed, the global scientific community has not yet accepted that B is an important micronutrient for human nutrition and its important role in human metabolism (19); however

we are sure that in a short term the B essentiality for human will be proven, and when this occurs we finally understand why since 35 years ago Newnham recommended their use to prevent and correct arthritis and osteoporosis.

REFERENCES

1. Crespo E. El boro elemento nutricional esencial en la funcionalidad ósea. *Rev EspCirOsteoart.* 2001; 206: 88-95.
2. Newnham ER. Mineral imbalance and boron deficiency. In: Trace elements metabolism in man and animals (TEMA-4). In: Howell JMcC, Gawthorne JM, White CL, eds. Canberra, Australia. Aust Acad Sci.1981; 400-402.
3. Newnham ER, Bingham RB, Hegsted M, Hunt C, Jeffries JJ, Loneragan LJ, et al. Supplement to the art of getting well boron and arthritis. Wyburn-Mason and Jack M. Blount Foundation for Eradication of Rheumatoid Disease.AKA The arthritis Trust of America. Fairview TN, USA. 1994; 10p.
4. Price TC, Langford RJ, Liporace AF. Essential nutrients for bone health and a review of their availability in the average North American diet. *Open OrthopJ.* 2012; 6:143-149.
5. Strum BS. Boron maintains bones, joints, neurons and may reduce prostate cancer risks. *LE Magazine.* 2003. <http://www.lef.org/>
6. Meacham S, Karakas S, Wallace A, Altun F. Boron in human health: evidence for dietary recommendations and public policies. *Open Miner Process J.* 2010; 3:36-53.
7. Vengosh A, Kloppmann W, Marei A, Livshitz Y, Gutierrez A, Banna M, et al. Sources of salinity and boron in the Gaza strip: natural contaminant flow in the southern Mediterranean coastal aquifer. *Water Resour Res.* 2005; 41: doi:10.1029/2004WR003344.
8. Weinthal E, Parag Y, Vengosh A, Muti A, Kloppmann W. The EU drinking water directive: the boron standard and scientific uncertainty. *Eur Environ.* 2005; 15:1-12.
9. Bakirdere S, Orenay S, Korkmaz M. Effect of boron on human health. *Open Miner Process J.* 2010; 3:54-59.
10. Becking GC, Chen BH. International Program on Chemical Safety (IPCS) environmental health criteria on boron human health risk assessment. *Biol Trace Elem Res.* 1998; 66:439-52.
11. Hunt DC, Shuler RT, Mullen ML. 1991. Concentration of boron and other elements in human foods and personal care products. *J Am Diet Assoc* 1991; 91: 558-568.
12. Dinca L, Scorey R. Boron in human nutrition and its regulations use. *J Nutr Ther.* 2013; 2:22-29.
13. Devirian AT, Volpe LS. The physiological effects of dietary boron. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2003; 43: 219-231.
14. Lea AM, Ibeh C, desBordes C, Vizzotto M, Cianeros-Ceballos L, Byrne HD, et al. Inhibition of growth and induction of differentiation of colon cancer cells by peach and plum phenolic compounds. *Anticancer Res.* 2008; 28: 2067-2076.
15. Canene-Adams K, Lindshield LB, Wang S, Jeffery HE, Clinton KS, Erdman Jr. WJ. Combinations of tomato and broccoli enhance antitumor activity in dunning R3327-H prostate adenocarcinomas. *Amer Assoc Cancer Res.* 2007; 67: 836-843.
16. Singh PR, Tyagi KA, Dhanalakshmi S, Agarwal R, Agarwal C. 2004. Grape seed extract inhibits advanced human prostate tumor growth and angiogenesis and upregulates insulin-like growth factor binding protein-3. *Int J Cancer.* 2004; 108: 733-740.
17. Lin Y, Kazlova V, Ramakrishnan S, Murray AM, Fast D, Chandra A, et al. Bone health nutraceuticals alter microarray mRNA gene expression: A randomized, parallel, open-label clinical study. *Phytomed.* 2016; 23: 18-26.
18. Nielsen HF. 1988. Boron an overlooked element of potential nutritional importance. *Nutr Today.* January-February. 1988; 1-7.
19. Hunt DC. Dietary boron: progress in establishing essential roles in human physiology. *J Trace Elem Med Biol.* 2012; 26:157-160.

NOTAS NECROLOGICAS

DR. ERNESTO POLLITT

Estimados miembros de la SLAN:

Les comparto con pesar la triste noticia de la muerte de Ernesto Pollitt, uno de los investigadores Latinoamericanos más notables en el campo de la nutrición y su relación con el desarrollo neuroconductual. Ernesto era un hombre con una aguda inteligencia, una perspicaz capacidad crítica, una amplia cultura, gustos refinados y de un gran corazón.

Tuve el privilegio de trabajar con Ernesto y conocerlo de cerca en el proyecto longitudinal del oriente de Guatemala, dirigido por Reynaldo Martorell. Aprendí mucho de Ernesto, leí varios de sus trabajos y me enteré de sus grandes contribuciones y aportes al conocimiento, gocé de su aguda inteligencia y mente brillante. Fuimos coautores (aunque yo era en realidad su aprendiz) de varios trabajos en los que Ernesto desplegab ideas innovadoras y creativas y de los que aprendí mucho. Compartí con él nuestro gusto mutuo por la buena cocina y el vino, y sobre todo nuestra pasión por la literatura latinoamericana contemporánea. Hablamos largas horas sobre la obra

de Hector Aguilar Camín, de algunos de los personajes de sus libros a quienes conocí en la vida real y sobre otros autores. Frecuentemente intercambiábamos libros o recomendaciones sobre lecturas sugeridas.

En nuestra casa en Cuernavaca, Tere y yo pasamos veladas inolvidables con Ernesto y varios amigos, departiendo y cantando canciones latinoamericanas. Tuve el gusto de conocer y convivir con su esposa, Carmen, a quien estimo y admiro. La última vez que vi a Ernesto fue en una visita que hice a Lima, en la que me llevó a degustar la refinada cocina Peruana que gozamos juntos. Ayer hablé con Carmen a quien expresé mis condolencias y mi admiración y cariño por Ernesto.

La comunidad de investigadores y profesionales de la nutrición vamos a extrañar a Ernesto, a sus contribuciones y sus ideas innovadoras. En lo personal, voy a añorar mucho al amigo entrañable.

Dr. Juan Angel Rivera Dommarco
Director
Centro de Investigación en Nutrición y Salud
Instituto Nacional de Salud Pública

INFORMACION PARA LOS AUTORES

En 1950 el Instituto Nacional de Nutrición de Venezuela edita su revista Archivos Venezolanos de Nutrición la cual en 1966 es donada a la recién creada Sociedad Latinoamericana de Nutrición, SLAN, para convertirse en su órgano oficial de divulgación Archivos Latinoamericanos de Nutrición, ALAN.

ALAN acoge en sus páginas trabajos de investigación originales sobre temas relacionados con alimentación y nutrición, entre ellos, nutrición humana y animal, bioquímica nutricional aplicada, nutrición clínica y comunitaria, educación en nutrición, ciencia y tecnología de alimentos, microbiología de alimentos, revisiones científicas críticas, Editoriales y Cartas al Editor.

Todos los artículos que se publican pasan por un proceso de arbitraje externo. El Comité Editorial no se hace responsable de los conceptos emitidos en los artículos aceptados. No se mantendrá correspondencia sobre aquellos que no sean publicados.

REQUISITOS PARA LA PRESENTACIÓN DE MANUSCRITOS VÍA ELECTRÓNICA

Resumen de requisitos:

- Todas las partes del manuscrito estarán presentadas en versión Word a doble espacio, con letra Times New Roman (tamaño 12) en páginas tamaño carta. El trabajo debe tener una extensión no mayor de 23 páginas, incluyendo las Tablas, Figuras e ilustraciones si la hubiere, las cuales deben estar incorporadas al final del texto. Todas las páginas deben estar numeradas.
- Revise la secuencia general: Título del manuscrito y autores, Resumen y palabras clave, Introducción, Materiales y Métodos, Resultados, Discusión, Conclusiones, Agradecimientos, Referencias, Tablas y Figuras.
- Adjunte carta de presentación y aceptación de autoría firmada por los investigadores involucrados. Los autores podrán sugerir los nombres de tres posibles árbitros con sus respectivas direcciones electrónicas.

- Envíe el manuscrito junto con la carta de presentación, a la siguiente dirección electrónica: info@alanrevista.org

PORTADA

Debe contener: Título del manuscrito. Nombres, apellidos y la afiliación institucional de los autores. Nombre, dirección postal, número de teléfono y dirección de correo electrónico del autor encargado de la correspondencia.

RESUMEN Y PALABRAS CLAVE

Escrito en forma corrida y no en secciones, que no sobre pasará las 250 palabras de extensión. Agréguese de 3 a 6 palabras clave que ayuden a los indizadores a clasificar el artículo. ALAN exige que si el trabajo original es en español o en inglés, deberá acompañarse de un resumen en inglés o en español o alternativamente en portugués con sus palabras clave.

INTRODUCCIÓN

Enuncie la finalidad o el objetivo de investigación específico del estudio u observaciones, o bien la hipótesis que se ha puesto a prueba. Cite las referencias estrictamente pertinentes.

MATERIALES Y MÉTODOS

Identifique los métodos, los aparatos y equipos (nombre y dirección del fabricante) y los procedimientos realizados. Identifique los reactivos y productos químicos utilizados.

Describa los métodos estadísticos con detalles e indique el método y modelo estadístico.

RESULTADOS

Limite las Tablas y las Figuras al número necesario para explicar el argumento y resultados de la investigación y evaluar los datos en que se apoya.

Se sugiere un máximo de 5 Tablas y 3 Figuras.

DISCUSIÓN

Breve y concisa, contrastada con observaciones realizadas en otros estudios. Proponga nuevas hipótesis cuando haya justificación para ello, pero identificándolas claramente como tales.

CONCLUSIONES

Refiérase a las más relevantes y oriente sobre posibles vías para continuar la investigación o el estudio emprendido.

No cite referencias bibliográficas en esta sección.

AGRADECIMIENTOS

Mencione la procedencia del apoyo recibido en forma de subvenciones (equipos, reactivos, medicamentos) y a las instituciones financiadoras del estudio, dependencia e instituciones que apoyaron su ejecución, así como a personas y colaboradores.

TABLAS Y FIGURAS

Numérelas consecutivamente en arábigos siguiendo el orden en que se citan por primera vez en el texto. Cerciórese de que cada Tabla y Figura aparezca citada en el manuscrito.

REFERENCIAS

En el texto numere las referencias consecutivamente siguiendo el orden en que se

mencionan por primera vez y se identificarán mediante números arábigos entre paréntesis.

Las Referencias serán listadas al final del manuscrito en orden numérico, no en orden alfabético. La veracidad de la información contenida en ésta sección es responsabilidad del autor (de los autores).

COSTO POR PÁGINA

Debido a los altos costos de impresión y publicación, ALAN ha estipulado dentro de su política editorial el costo de US \$ 20 por concepto de página publicada, suma que deberá ser agenciada por los autores a través de sus subvenciones de investigación o ante las instituciones donde prestan sus servicios. Se hace notar sin embargo, que este costo por página no condicionará de manera alguna la aceptación y publicación del trabajo, lo cual estará dado por los méritos del mismo.

Debido a que no existe al presente una traducción oficial al español, se transcribe por razones de espacio, solo el título del documento que sigue: **RECOMMENDATIONS FOR THE CONDUCT, REPORTING, EDITING, AND PUBLICATION OF SCHOLARLY WORK IN MEDICAL JOURNALS** Updated AUGUST 2013. Para una lectura completa de esta versión, los autores deben acudir al siguiente sitio: <http://www.icmje.org>

LA SOCIEDAD LATINOAMERICANA DE NUTRICION (SLAN)

La Sociedad Latinoamericana de Nutrición (SLAN) fue creada el 10 de Noviembre de 1965 en ocasión de celebrarse el Primer Congreso de Nutrición del Hemisferio Occidental. El actual Consejo Directivo de la SLAN (2016-2018) está constituido por los siguientes miembros:

Presidente	Juan Angel Rivera Dommarco
Vicepresidente (Presidente electo)	Rafael Figueredo Grijalba
Presidente saliente	Maria de las Nieves García Casal

DIRECTORIO DE ARCHIVOS LATINOAMERICANOS DE NUTRICION

Editor General	José Félix Chávez Pérez
Editor Asociado	Maritza L. de Jiménez
Editor Asistente	Miriam Strauss

COMITE EDITORIAL. PERÍODO 2016-2018

Elizabeth Dini Golding	Fanny Carrillo de Padilla
Betty Méndez Pérez	Elba Sangronis
Cristina Palacios Alzuru	Juscelino Tovar
Patricio Hevia Opazo	Pilar Hernández Serrano
Liseti Solano R.	Alexia Torres

MIEMBROS DEL CUERPO EDITORIAL. PERÍODO 2016 - 2018

Juan de Dios Alvarado - Ecuador	Michelle López - Venezuela
Jaime Amaya Farfán - Brasil	Laura B. López de Bellesi - Argentina
Hugo Amigo A. - Chile	Laura B. López de Ventades -Argentina
Marián Araujo Yasselli - Venezuela	Luis López Valladares - Chile
Héctor Araya - Chile	Mariane Lutz Riquelme - Chile
María Laura Arias E. - Costa Rica	Marbella Marcano Martell - Venezuela
Linda Arturo - Ecuador	Julio Sergio Marchini - Brasil
Eduardo Atalah Samur – Chile	Mariana Mariño Elizondo - Venezuela
Luis A. Bello Pérez – México	María L. P. Martín de Portela – Argentina
Odilia Bermúdez - E.E.U.U	Luis Antonio Mejia - Mexico
David Betancur-Ancona - México	Josefina Morales de León - México
Adriana Blanco Metzler - Costa Rica	Alvaro Ojeda - Venezuela
Erick Boy - E.E.U.U	Manuel Olivares - Chile
Josefina Bressan R. - Brasil	Saturnino de Pablo - Chile
Jesús Bulux - Guatemala	María Concepción Páez V. - Venezuela
Ana M. Calderón de la Barca-México	Ingrid Rached Paoli - Venezuela
Luis A. Caballero M. - Venezuela	Delia Rodríguez Amaya - Brasil
Fernando Carrasco Naranjo - Chile	Manuel Ruz Ortiz - Chile
Louella Cuningham - Costa Rica	Alba Morón de Salim - Venezuela
Marcia Erazo – Chile	Norma Sammán - Argentina
Luis Falque Madrid - Venezuela	Sonia G. Sáyago Ayerdi - México
Patricia R. de Ferrer - Argentina	Teresa Shamah Levi – México
Elvira González de Mejía - México	Yaritzta Sifontes - Venezuela
María A. González Stäger - Chile	Ingrid Soto de Sanabria - Venezuela
Marisela Granito - Venezuela	Nilson E. de Sousa - Brasil
Marisa Guerra M. - Venezuela	Coromoto M. Tomei - Venezuela
Marianella Herrera Cuenca - Venezuela	Macarena Urestarazu Devincenzi -Brasil
Hector A. Herrera M. -Venezuela	Elio Vannucchi – Brasil
Ileana Holst Schumacher - Costa Rica	Iñigo Verdalet Guzman - México
Marta Kaufer Horwitz - México	Liliana Zago - Argentina

Archivos Latinoamericanos de Nutrición

Volumen 66. N° 1, Marzo 2016

Contenido

ARTICULOS GENERALES

Capability of *in vitro* digestibility methods to predict *in vivo* digestibility of vegetal and animal proteins

Fabricia Queiroz Mendes, Maria Goreti De Almeida Oliveira, Neuza Maria Brunoro Costa, Christiano Vieira Pires, Flávia Regina Passos..... 5

PERSPECTIVA

Fuentes naturales de fitoesteroles y factores de producción que lo modifican

Paola Silva, Ana C. Pinheiro, Lorena Rodríguez, Victoria Figueroa, Cecilia Baginsky..... 17

TRABAJOS DE INVESTIGACION

Nutrición Infantil

Nutritional status and cardiovascular risks in children of two schools in Bogotá, Colombia

Sorany Vera, Jenifer Tatiana Figueroa, Luz Helena Aranzález, Ismena Mockus..... 25

Fósforo sérico en niños con desnutrición grave y su relación con el síndrome de realimentación

Thais Álvarez de Acosta, Isabel Cluet de Rodríguez, Mario Rosario Rossell Pineda, María Alejandra Castillo..... 34

Salud Pública

Calidad de vida relacionada con la salud y obesidad en trabajadores de manufacturas en Jalisco, México.

José G. Salazar-Estrada, Alma Gabriela Martínez Moreno, Teresa Margarita Torres López, Carolina Aranda Beltrán, Antonio López-Espinoza..... 43

The prevalence of metabolic syndrome among students with different levels of physical activity

Jerzy Saczuk, Agnieszka Wasiluk, Jan Czaczelewski, Barbara Długolecka..... 52

Microbiología de Alimentos

Efecto antimicrobiano del extracto etanólico foliar del Neem

(*Azadirachta indica* A. Juss) sobre *Listeria monocytogenes*

Luis Guillermo Ramírez Mérida, Alba Morón de Salim, Doris Reyes, Ariana Rivero, Luz A. Sánchez, Luz K. Sánchez..... 60

Ciencia de Alimentos

Evaluation of extracts from potato and tomato wastes as natural antioxidant additives

María del Carmen Robles-Ramírez, Ricardo Monterrubio-López, Rosalva Mora-Escobedo, María del Carmen Beltrán-Orozco..... 66

LatinFoods. Composición de Alimentos

Composición química de harina de calamar gigante *Dosidicus gigas*

Ma. de la Concepción Calvo, Ma. Elena Carranco, César A. Salinas, Silvia Carrillo..... 74

CARTAS AL EDITOR

Will boron be essential for human nutrition?

Anacleto Sosa Baldivia, Guadalupe Ruiz Ibarra, and Jorge D. Etchevers Barra 82

NOTAS NECROLOGICAS..... 84

INFORMACION PARA LOS AUTORES..... 85