

Archivos Latinoamericanos de Nutrición

Órgano Oficial de la Sociedad Latinoamericana de Nutrición

VOL 62

MARZO 2012

Nº1

Contenido

	Páginas
EDITORIAL	5
ARTICULOS GENERALES	
α-Lactoalbúmina como ingrediente de fórmulas infantiles <i>Peso Echarri P., González Bermúdez C. A., Vasallo Morillas M.I., Santaella Pascual M., Ros Berruezo G., Frontela Saseta C., Martínez Graciá C.</i>	6
PERSPECTIVA	
El consumo elevado de licopeno sumado a una ingestión reducida de carnes rojas aumenta el poder antioxidante total <i>Diego Messina, Rafael Pérez Elizalde, Catalina Soto, Ana Uvilla, José Daniel López Laur, Constanza López Fontana.</i>	15
TRABAJOS DE INVESTIGACIÓN	
Nutrición Clínica	
Relación del consumo de alimentos de alto índice glicémico en la dieta y los niveles de HbA1c en individuos Diabéticos Tipo 2 en tratamiento con dieta y/o Metformina <i>Nicol Varela D., Claudia Vega S., Karen Valenzuela L.</i>	23
Calcium supplementation, bone mineral density and bone mineral content. Predictors of bone mass changes in adolescent mothers during the 6-month postpartum period <i>Agustina Malpeli, María Apezteguia, José L. Mansur, Alicia Armanini, Melisa Macías Couret, Rosa Villalobos, Marta Kuzminczuk, Horacio F. Gonzalez.</i>	30

Nutricion Experimental

Freeze-dried jaboticaba peel powder rich in anthocyanins did not reduce weight gain and lipid content in mice and rats

Anne Y. Castro Marques, Nathalia Romanelli Dragano, Sabrina Alves Lenquiste, Ángela Giovana Batista, Carina Carlucci Palazzo, Mário Roberto Maróstica Jr. 37

Nutrición y Obesidad

Sobrepeso medido por IMC o percibido y comportamientos de control del peso en adolescentes universitarios de Ciudad Guzmán, Jalisco, México.

Hidalgo-Rasmussen Carlos Alejandro, Ramírez-López Guadalupe, Montaña Espinoza Rosa. 44

Educacion Alimentaria

Food advertising and television exposure: influence on eating behavior and nutritional status of children and adolescents

Suzane Mota Marques Costa, Paula Martins Horta, Luana Caroline Dos Santos 53

Evaluación de una intervención en educación alimentaria y actividad física para prevenir obesidad infantil en escuelas públicas de Santiago de Chile.

Juliana Kain, Bárbara Leyton, Fernando Concha, Gerardo Weisstaub, Luz Lobos, Nelly Bustos, Fernando Vio 60

Microbiología de Alimentos

Antimicrobial action of lactoferrin on *Staphylococcus aureus* inoculated in Minas frescal cheese

Alisson Santana da Silva, Edson Renato Honjaya, Sibebe Camilo Cardoso, Cínthia Hoch Batista de Souza, Marcela de Rezende Costa, Elsa Helena Walter de Santana, Lina Casale Aragon-Alegro 68

Efecto bacteriostático y/o bactericida del extracto de gel de *Aloe vera* sobre cultivos de *Listeria monocytogenes*.

Luis Guillermo Ramírez Mérida, Alba Morón de Salim, Rosangela Catinella, Luis Castillo 73

Ciencia de Alimentos

Establecimiento de condiciones óptimas para obtener un aislado proteico de avellana chilena (*Gevuina avellana*, Mol).

Mario Villarroel, Constanza Zapata, Leonardo Pino, Mónica Rubilar 79

Latinfoods. Composición de Alimentos

Native black Michuñe potato variety: characterization, frying conditions and sensory evaluation

M. Rubilar, M. Villarroel, M. Paillacar, D. Moenne-Locóz, C. Shene, E. Biolley, F. Acevedo 87

NOTAS NECROLOGICAS

Juan Claudio Sanahuja 1921 - 2012

Maria Luz Pita Martin de Portela 94

INFORMACION PARA LOS AUTORES 96

Archivos Latinamericanos de Nutrición

Official Publication of the Latin American Society of Nutrition

VOL 62

MARCH 2012

Nº1

Contents

	Pages
EDITORIAL	5
GENERAL ARTICLES	
α-Lactalbumin as an ingredient of infant formula <i>Peso Echarri P., González Bermúdez C. A., Vasallo Morillas M.I., Santaella Pascual M., Ros Berrueto, G., Frontela Saseta C., Martínez Graciá C.</i>	6
PERSPECTIVE	
High intake of lycopene together with low intake of red meat increases the total antioxidant status <i>Diego Messina, Rafael Pérez Elizalde, Catalina Soto, Ana Uvilla, José Daniel López Laur, Constanza López Fontana.</i>	15
RESEARCH PAPERS	
Clinical Nutrition	
Relationship of consumption of high glycemic index food in the diet and levels of HbA1c in type 2 diabetic patients treated with diet and / or Metformin <i>Nicol Varela D., Claudia Vega S., Karen Valenzuela L.</i>	23
Calcium supplementation, bone mineral density and bone mineral content. Predictors of bone mass changes in adolescent mothers during the 6-month postpartum period <i>Agustina Malpeli, María Apezteguia, José L. Mansur, Alicia Armanini, Melisa Macías Couret, Rosa Villalobos, Marta Kuzminczuk, Horacio F. Gonzalez.</i>	30

Experimental Nutrition

Freeze-dried jaboticaba peel powder rich in anthocyanins did not reduce weight gain and lipid content in mice and rats

Anne Y. Castro Marques, Nathalia Romanelli Dragano, Sabrina Alves Lenquiste, Ângela Giovana Batista, Carina Carlucci Palazzo, Mário Roberto Maróstica Jr. 37

Nutrition and Obesity

Perceived or BMI-measured overweight and weight control behaviors in undergraduate adolescents from Ciudad Guzmán, Jalisco, México

Hidalgo-Rasmussen Carlos Alejandro, Ramírez-López Guadalupe, Montañó Espinoza Rosa. 44

Food Education

Food advertising and television exposure: influence on eating behavior and nutritional status of children and adolescents

Suzane Mota Marques Costa, Paula Martins Horta, Luana Caroline Dos Santos 53

Evaluation of an obesity prevention intervention which included nutrition education and physical activity applied in public schools of Santiago, Chile

Juliana Kain, Bárbara Leyton, Fernando Concha, Gerardo Weisstaub, Luz Lobos, Nelly Bustos, Fernando Vio 60

Food Microbiology

Antimicrobial action of lactoferrin on *Staphylococcus aureus* inoculated in Minas frescal cheese

Alisson Santana da Silva, Edson Renato Honjoya, Sibele Camilo Cardoso, Cíntia Hoch Batista de Souza, Marcela de Rezende Costa, Elsa Helena Walter de Santana, Lina Casale Aragon-Alegro 68

Bacteriostatic and/or bactericidal extract of *Aloe vera* gel on cultures of *Listeria monocytogenes*.

Luis Guillermo Ramírez Mérida, Alba Morón de Salim, Rosangela Catinella, Luis Castillo 73

Food Science

Establishment of optimum conditions in order to obtain a protein isolate from Chilean Hazelnut (*Gevuina avellana*, Mol).

Mario Villarroel, Constanza Zapata, Leonardo Pino, Mónica Rubilar 79

Latinfoods. Food Composition

Native black Michuñe potato variety: characterization, frying conditions and sensory evaluation

M. Rubilar, M. Villarroel, M. Paillacar, D. Moenne-Locóz, C. Shene, E. Biolley, F. Acevedo 87

IN MEMORIAM

Juan Claudio Sanahuja 1921 - 2012

Maria Luz Pita Martin de Portela 94

INFORMATION FOR AUTHORS 96

EDITORIAL

VEINTE AÑOS

Con el Volumen 62, Número 1, marzo 2012, que hoy se entrega, Archivos Latinoamericanos de Nutrición, ALAN, cumple veinte años de publicación ininterrumpida en Caracas. Puede decirse que ALAN tiene ya mayoría de edad, con 62 años, si contamos desde su origen en 1950 como Archivos Venezolanos de Nutrición, publicación destinada a dar a conocer el quehacer científico del Instituto Nacional de Nutrición de Venezuela. En todo caso, ALAN tiene una edad “real” de 47 años, toda vez que fue en 1965 cuando se crea la Sociedad Latinoamericana de Nutrición, SLAN, y se origina ALAN como su órgano oficial de divulgación. (Ver EDITORIAL. “De cómo Archivos Venezolanos de Nutrición pasó a ser Archivos Latinoamericanos de Nutrición.” Volumen 55, Número 2, 2005). Entre 1966 y 1978 ALAN es publicado en Caracas bajo la responsabilidad de Werner G. Jaffé, como su primer Editor y en 1979 ALAN pasa a Guatemala donde permanece hasta 1991, período en el cual Ricardo Bressani se desempeña como Editor General. Vaya un sentido recuerdo a Werner G. Jaffé, fallecido en 2009, y un merecido reconocimiento a Ricardo Bressani, activo todavía en la Universidad del Valle de Guatemala. “Una sola rosa para el que vive, es mejor que una gran corona para el que ya se fue.” En 1992 ALAN vuelve a Venezuela y el cargo de Editor General es ocupado por Virgilio Bosh Román hasta 1997 cuando José Félix Chávez Pérez pasa a desempeñar dicha posición. En estos veinte años se han entregado 20 Volúmenes, 80 Números, un aproximado de 1.120 manuscritos publicados y 11 Suplementos.

ALAN recibió en junio de 1994 el Premio Anual “Tulio Arends” otorgado por el CONICIT (actualmente FONACIT), Venezuela, a la mejor revista científica y tecnológica nacional y en 1995 la Mención Honorífica al mismo Premio. En febrero de 2007 el FONACIT realizó una Evalua-

ción de Mérito de las revistas científicas y tecnológicas venezolanas y de un total de 74, ALAN ocupó el cuarto lugar con una calificación de 90,15 sobre cien, quedando ubicada en la 2da. posición dentro del área de Biomedicina. En la Evaluación Integral de 2010, realizada por la misma institución, ALAN obtuvo una calificación de 79,14 puntos, colocándose en el quinto lugar sobre un total de 22 revistas en el área de Biomedicina. Por razones que no viene al caso comentar, el FONACIT retiró en 2009 el financiamiento a las revistas científicas venezolanas, inesperado contratiempo en la publicación y distribución de ALAN. La oportuna participación del Capítulo Venezolano de la SLAN en estas circunstancias, ha contribuido no obstante, a mantener nuestro nivel de excelencia. En el lapso que enmarca este Editorial (1992 – 2012), ALAN ha participado en los seis Congresos Latinoamericanos de Nutrición organizados por la SLAN: Venezuela 1994, Presidente Eleazar Lara Pantin; Guatemala 1997, Presidente Hernán Delgado; Buenos Aires 2000, Presidente Alejandro O’Donell; México 2003, Presidente Adolfo Chávez Villasana; Brasil 2006, Presidente Helio Vannuchi; Chile 2009, Presidente Eduardo Atalah Samur. Al momento de escribir estas líneas el XVI Congreso se realizará en Cuba el próximo noviembre, bajo la presidencia de Manuel Hernández Triana. Aguardemos los acontecimientos. Quiero citar el último párrafo del primer Editorial de ALAN, escrito por Conrado Federico Asenjo en septiembre de 1966: “...debemos tener muy presente que su éxito como revista científica de reconocida responsabilidad y prestigio dependerá exclusivamente de los artículos originales de alta calidad y valor que aparezcan en sus páginas. Este es el reto que nosotros, los miembros de la SLAN, tenemos que aceptar...” Toda una historia. Toda una labor. Veinte años si es algo.

José Félix Chávez Pérez
Editor General. ALAN

α -Lactoalbúmina como ingrediente de fórmulas infantiles

Peso Echarri P., González Bermúdez C. A., Vasallo Morillas M.I., Santaella Pascual M.,
Ros Berrueto G., Frontela Saseta C., Martínez Graciá, C.

Departamento de Tecnología de los Alimentos, Nutrición y Bromatología. Facultad de Veterinaria,
Universidad de Murcia 30100. Murcia, España.

Instituto de Nutrición Infantil Hero España S.A. Alcantarilla, Murcia. España.

RESUMEN. La α -lactoalbúmina es la principal proteína del lactosuero en la leche materna, alcanzando una concentración de 2,44 g/L en la leche madura. Su principal función es la síntesis de lactosa a partir de glucosa y galactosa en la glándula mamaria, aunque posee además otros efectos beneficiosos sobre la salud del lactante debido a su elevada proporción de aminoácidos esenciales (triptófano y cisteína). Según diversos estudios parece influir positivamente en la absorción de hierro en el intestino del niño, y en experimentos *in vitro*, unida al ácido oleico (complejo HAMLET), es efectiva frente a tumores celulares como el papiloma humano. El complejo HAMLET también presenta un claro efecto antimicrobiano frente a *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, cepas enteropatógenas de *Escherichia coli* y *Salmonella thypimurium*, sin embargo no se ha demostrado que durante la digestión de la leche materna se forme dicho complejo en el tracto digestivo del lactante. El desarrollo de fórmulas infantiles destinadas a la alimentación del niño durante el primer año de vida ha mejorado considerablemente en las últimas décadas intentando no sólo adecuar la concentración de nutrientes a los requerimientos del lactante, sino también adicionando compuestos bioactivos de diferente naturaleza, como la α -lactoalbúmina, con el objetivo de alcanzar los efectos funcionales que se producen en los niños alimentados con leche materna.

Palabras clave: α -lactoalbúmina, efectos beneficiosos, fórmulas de inicio.

SUMMARY. α -Lactalbumin as an ingredient of infant formula. α -lactalbumin is the main whey protein in human milk rising 2,44 g/L in mature milk. It has a key function in the synthesis of lactose from glucose and galactose in the mammary gland although this compound has also other beneficial effects on the infant health due to the high proportion of essential aminoacids (tryptophan and cysteine). It seems also to increase iron absorption in the digestive track, and in *in vitro* experiments, linked to oleic acid (HAMLET complex), has shown anticarcinogenic effects against cellular tumor such as human papilloma. In addition, this complex has been reported to exhibit antimicrobial properties against *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, enteropathogenic strains of *Escherichia coli* and *Salmonella thypimurium*. However, the *in vivo* synthesis of HAMLET complex during milk digestion has not been proved yet. Infant formula have been improved considerably during the last decades not only adapting nutrient concentrations to infants requirements but also by the addition of new bioactive ingredients such as α -lactalbumin, to have the same functional effect as in breast fed babies.

Key words: α -lactalbumin, infant formula, beneficial effects.

INTRODUCCIÓN

La Sociedad Europea de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátrica y la Federación Internacional de Sociedades de Pediatría, Gastroenterología, Hepatología y Nutrición se reunieron en el año 2005 con expertos en el área de nutrición infantil para definir las necesidades nutricionales en la infancia. Los datos de la composición de la leche materna de mujeres sanas y bien nutridas proporcionan una guía para establecer la composición de fórmulas infantiles. Sin embargo estos valores no deben ser tomados en sentido estricto ya que la composición de la leche materna

varía entre individuos y con la etapa de lactación, habiendo además considerables diferencias entre la biodisponibilidad y efecto metabólico de nutrientes propios de la leche humana y los similares añadidos a las fórmulas infantiles. Por lo tanto una composición adecuada para una fórmula infantil se conseguirá comparando los efectos fisiológicos (patrón de crecimiento), bioquímicos (marcadores plasmáticos) y funcionales (como la respuesta inmune) que producen dicha fórmula y los de la leche materna. Este grupo internacional de expertos concluyó que la fórmula infantil sólo debe contener ingredientes en las cantidades que sirvan para un propósito nutricional o que aporten

un beneficio al lactante (1), lo cual queda igualmente establecido en los principios generales para el establecimiento de la composición esencial de los preparados para actantes en la Norma del Codex Alimentarius STAN 72-1981. Los últimos avances que se han realizado se dirigen a la reducción y adaptación del contenido proteico y de fósforo, y a la adición de taurina, carnitina, nucleótidos, ácidos grasos de cadena larga y oligosacáridos (2).

Una de las principales diferencias entre la leche de vaca y la leche humana es su concentración proteica. La leche humana aporta 14-16 g/L de proteínas durante los primeros días de lactación, 8-10 g de proteínas /L a los 3-4 meses y de 7 a 8 g/L a partir del sexto mes (3), mientras que la leche de vaca contiene 32 g/L de proteínas (4). Por esta razón los primeros intentos para adaptar la leche de vaca a la alimentación del lactante se centraron en diluirla (5) para reducir la cantidad de proteínas y minerales y así disminuir la carga renal de solutos, lo cual constituía un factor limitante en la alimentación del niño debido a la inmadurez de estos órganos (6). Posteriormente, los estudios se centraron en resolver el predominio de proteínas del lactosuero en la leche materna en relación a las fórmulas infantiles, mediante la adición de proteínas del lactosuero de origen bovino. En la mujer, la concentración de proteínas del lactosuero es muy elevada en los primeros días de la lactación mientras que la concentración de caseína es casi inapreciable. Con el avance de la lactación, aumenta la síntesis de caseína y el volumen de leche producido por la glándula mamaria, disminuyendo la concentración total de proteínas del lactosuero. Por lo tanto se sabe que no existe una relación fija de proteínas del lactosuero con respecto a la caseína en la leche humana sino que ésta varía a lo largo de la lactación adecuándose a las necesidades del niño. El cociente proteínas del lactosuero:caseína citado más frecuentemente en las referencias bibliográficas es de 60:40, y es una aproximación media, aunque hay que tener en cuenta que éste cambia desde 80:20 en las primeras etapas de lactación hasta 50:50 al final de la misma (3).

Otro factor a tener en cuenta en el diseño de fórmulas infantiles, es la diferente composición de las proteínas del lactosuero de la leche bovina en relación a la humana, incluso su composición aminoacídica. Los aminoácidos que son esenciales para el lactante se han establecido teniendo en cuenta el perfil aminoacídico

de la leche materna. En este sentido, la concentración de triptófano y cisteína es la mitad en la leche de vaca que en la humana, cuando se expresa como porcentaje de proteína total (5). El triptófano es precursor de la serotonina y melatonina, neurotransmisores que regulan el apetito, el humor, la percepción del dolor y el patrón de sueño (5, 7). Por otro lado, la cisteína es un precursor del glutatión (sistema antioxidante) y de la taurina (8), aminoácido que juega un papel importante en el desarrollo del cerebro. Pero la suplementación de las fórmulas con triptófano o cisteína (como aminoácidos libres) no parece ser una manera efectiva de resolver estos problemas, ya que es posible que no sean utilizados de forma eficiente para la síntesis de proteínas porque son absorbidos antes que otros aminoácidos que constituyen la dieta. Además, la leche humana contiene sólo un 5% de aminoácidos libres, principalmente ácido glutámico, y taurina (9).

Por todo ello, es necesaria la investigación de métodos adecuados para que los aminoácidos aportados por las fórmulas infantiles proporcionen un patrón de aminoácidos en sangre lo más parecido posible al de los lactantes alimentados con leche materna, aunque este objetivo resulta difícil de conseguir a partir de las proteínas de la leche de vaca. Uno de los principales inconvenientes se produce debido a que la principal proteína del lactosuero bovino es la β -lactoglobulina (una proteína ausente en el lactosuero de la leche materna), siendo la α -lactoalbúmina la principal proteína del lactosuero de la leche humana (Figura 1). Una de las propuestas tecnológicas para mantener la calidad biológica de la proteína, es asegurar un buen aporte de

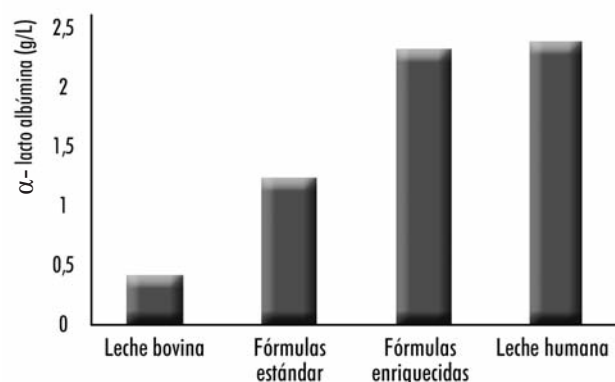


FIGURA 1

Concentración de α -lactoalbúmina en leche de vaca, fórmulas estándar, fórmulas ricas en α -lactoalbúmina y en leche materna. Adaptado de (14)

triptófano y reducir el contenido de proteínas mediante el enriquecimiento de la fórmula con alguna proteína rica en dicho aminoácido, como la α -lactoalbúmina (3).

Funciones de la α -lactoalbúmina

La proteína α -lactoalbúmina se encuentra en la leche de vaca en una concentración de 1 a 1,5 g/L, siendo aproximadamente el 3,4% de las proteínas totales y el 20% de las proteínas del lactosuero (10, 11). En la leche humana es la principal proteína del lactosuero, aumentando sus niveles desde un 21% hasta un 34% del día 1 al 14 de la lactación, y alcanzando en la leche madura (después del día 30) una concentración de 2,44 g/L (11, 12).

La α -lactoalbúmina posee una función bioquímica por su participación en reacciones enzimáticas, y una función nutricional ya que forma parte de la composición de la leche materna (Figura 2). La función bioquímica de esta proteína en las células de la glándula mamaria es de vital importancia en la lactogénesis, ya que junto a la galactosil-transferasa forma el complejo enzimático lactosa-sintasa, que cataliza la síntesis de lactosa a partir de glucosa y galactosa (13, 14). En concreto, la α -lactoalbúmina confiere a la galactosil-transferasa un incremento en la afinidad por la glucosa (15, 16), en contraposición a la formación de otros disacáridos que pueden ser sintetizados también por esta enzima. Una vez completada la síntesis de lactosa, la α -lactoalbúmina se disocia de la galactosil-transferasa (cuya unión es relativamente débil) y junto a otros componentes de la leche es transportado a la superficie apical de las células de la glándula mamaria, siendo descargada al lumen alveolar. La proteína es secretada a la leche siendo una importante fuente de aminoácidos para el lactante, cumpliendo su función nutricional (14). Su elevado contenido en aminoácidos esenciales (63% del total), particularmente triptófano (5,9% del total de los aminoácidos), cisteína y lisina, le confiere un importante valor nutricional para el lactante (17).

Estructura de la α -lactoalbúmina

Las estructuras completas de la α -lactoalbúmina bovina y humana fueron inicialmente definidas por Brew et al., (18) y Findlay y Brew (19), respectivamente. Puesto que la función es semejante en ambas especies, sus estructuras son muy similares. Ambas están formadas por una cadena de 123 aminoácidos con un 72% de homología en la secuencia. Esta estruc-

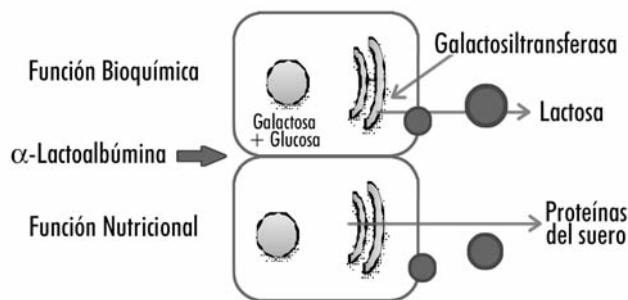


FIGURA 2

Función bioquímica y nutricional de la α -lactoalbúmina. Adaptado de Lien (14)

tura tan parecida minimiza la posibilidad de que la α -lactoalbúmina bovina tenga propiedades antigénicas para el niño recién nacido si la comparamos con otras proteínas lácteas como la β -lactoglobulina.

La estructura nativa de la α -lactoalbúmina posee dos dominios; uno formado por una gran α hélice y otro por una pequeña hoja β , estos se unen por un puente de cisteína entre los residuos 73 y 91 que forman el sitio de unión del calcio. Otro puente disulfuro conecta los dos dominios en los residuos 61-77 y toda la estructura es estabilizada por cuatro puentes disulfuro (20). La α -lactoalbúmina posee un sitio de fuerte unión al calcio que influye directamente en su estabilidad, aunque no es esencial para su actividad dentro del complejo lactosa-sintasa. Posee además un sitio secundario de unión al mismo mineral al que se acoplan cuatro cationes. La unión al calcio produce cambios en la función y estructura terciaria de la proteína (21). Además de este mineral se pueden unir otros cationes como Mg^{2+} , Mn^{2+} , K^+ y Na^+ , que compiten con el calcio produciendo en la misma cambios similares.

Bioactividad de la α -lactoalbúmina

En las Tablas 1 y 2 se resumen algunos de los estudios (*in vivo* e *in vitro*, respectivamente) que avalan los efectos beneficiosos de la proteína α -lactoalbúmina y de los péptidos procedentes de su digestión, así como los relacionados directamente con la actividad funcional que puede aportar la proteína cuando se adiciona a alimentos infantiles. Los efectos sobre la salud que produce la α -lactoalbúmina pueden dividirse en tres grupos; aquellos relacionados con la proteína intacta, los producidos por los péptidos obtenidos tras la hidrólisis parcial de la proteína y por último los que producen los aminoácidos libres que resultan de la

TABLA 1
Estudios realizados *in vitro* con α-lactoalbúmina o lactosuero. Efectos evidenciados

Grupos de estudio	Efectos	Referencia
α-LA + tripsina/α-LA + quimiotripsina/α-LA+ pepsina	2 péptidos resultado de la enzima tripsina mostraron actividad antimicrobiana. 1 péptido resultado de la actividad de la quimiotripsina mostró actividad antimicrobiana. Ningún péptido de la actividad de la pepsina mostró actividad antimicrobiana	(44)
α-LA + ácido oleico	Actividad antimicrobiana contra <i>Streptococcus pneumoniae</i>	(31)
α-LA	Péptidos inhibieron crecimiento de <i>Escherichia coli</i> JM103 La proteína intacta no tuvo actividad antimicrobiana	(46)
1% lactosa/Leche materna/F. 68% α-LA*/F. 68% GMP*	Disminuyeron los recuentos de <i>Escherichia coli</i> después de 6 horas de incubación con α-LA y GMP	(40)
1% lactosa/Leche materna/F. 68% α-LA*/F. 68% GMP*	α-LA y GMP inhibieron el crecimiento de <i>S. tiphymurium</i> y <i>E. coli</i> . α-LA y GMP mostraron beneficiosos sobre la microbiota intestinal	(43)
α-LA humana 90%**/α-LA bovina 68%**/α-LA bovina 25%**/GMP 80%**	Las células Caco-2 tratadas con las proteínas ensayadas intactas y digeridas (pepsina o pepsina + pancreatina) mostraron menor adhesión a los patógenos estudiados (EPEC, <i>S. thyphimurium</i> y <i>S. flexneri</i>) respecto al control	(45)
Proteínas lactosuero	Aumentó actividad del sistema inmune	(34)
α-LA camello/α-LA bovina	Mayor capacidad antioxidante de α-LA de camello	(51)
α-LA/β-LG	Aumenta actividad del sistema inmune	(35)

F. (fórmula infantil), α-LA (α-lactoalbúmina), GMP (Glicomacropéptidos), EPEC (*E. coli* enteropatógena)

* Indica porcentaje sobre el contenido proteico

**Indican porcentaje de pureza

TABLA 2
Estudios *in vivo* realizados con fórmulas infantiles enriquecidas con α-lactoalbúmina o lactosuero. Efectos evidenciados.

Grupos de estudio	Efectos	Referencia
FE /F. ↓Prot. 1/2[α-LA] /F. ↓Prot. ↑[α-LA]	Perfil aminoacídico semejante al de niños alimentados a pecho.	(24)
FE/ F α-LA/F. GMP/LM	Monos Rhesus alimentados con F α-LA, mostraron una composición de la microbiota intestinal semejante a los alimentados con LM.	(52)
FE/F. ↓Prot. ↑[α-LA]/F. 11% α-LA 14%GMP	Patrón de crecimiento similar en los dos grupos de niños. Mejor aceptación y tolerancia de la fórmula experimental	(26)
F. 25% α-LA 15% GMP/F. 25% α-LA 10% GMP/LM	No encontraron grandes diferencias en la microbiota intestinal debido a la alta variabilidad interindividual. ↓recuentos de clostridios.	(41)
FE /F. GMP/F. α-LA/LM	Monos Rhesus alimentados con F. α-LA presentaron un perfil aminoácido similar al de los alimentados con LM. ↑absorción Zn en los grupos F.GMP y F.α-LA	(30)
F. 70% lactosuero/LM	Crecimiento, tolerancia y recuentos en la microbiota intestinal similares a los de los niños alimentados con LM	(27)
F. 11% α-LA 14% GMP/F. 25% α-LA 15% GMP/F. 25% α-LA 10% GMP/LM	Patrón de crecimiento parecido a niños alimentados con LM. Concentración de triptófano ↑ (F.E vs. F ↑[α-LA])	(25)
Proteínas lactosuero	Aumenta repuesta sistema inmune de ratones infectados con <i>E.coli</i> 0157:H7	(37)
FE /F. ↑[α-LA] + probiótico	F. experimental produce menores efectos gastrointestinales en bebés con cólico, además su crecimiento fue el esperado.	(53)
F. 11% α-LA 14% GMP/F. 25% α-LA 15% GMP/F. 25% α-LA 10% GMP/LM	α-LA y GMP no afectaron a la absorción de hierro	(54)
FE/F. ↓Prot. ↑[lactosuero]/LM	El peso ganado del grupo alimentado con F. ↓Prot. ↑[lactosuero]se situó entre FE y LM. Crecimiento similar al grupo de LM	(28)

FE: Fórmula estándar; LM: Leche materna; F: fórmula; Prot: proteína; GMP: glicomacropéptidos; α-LA: α-lactoalbúmina

digestión completa de dicha proteína (11). La mayoría de las investigaciones se centran en este último punto debido a que la α -lactoalbúmina es particularmente rica en aminoácidos esenciales, sin embargo se debe destacar que existen otras funciones biológicas que derivan de la ingesta de α -lactoalbúmina.

Aunque, como ya se ha expuesto anteriormente, la estructura primaria de la α -lactoalbúmina bovina y humana es similar, se desconoce si se forman los mismos péptidos antimicrobianos durante la digestión *in vivo*. Además, es importante tener en cuenta que los procesos de purificación de esta proteína del lactosuero son cruciales para mantener su estructura y su bioactividad. El tratamiento térmico altera el patrón de uniones disulfuro entre proteínas y/o causa uniones cruzadas intermoleculares. La α -lactoalbúmina sola o en presencia de otras proteínas del lactosuero induce la formación de uniones intermoleculares por puentes disulfuro entre la proteína en sí, entre la α -lactoalbúmina y la β -lactoglobulina, o entre la α -lactoalbúmina y la albúmina sérica bovina, lo que impediría la liberación de los péptidos bioactivos con acción antimicrobiana.

Efectos derivados del aporte de aminoácidos esenciales

El triptófano, es un aminoácido precursor de la serotonina cerebral y de la melatonina. Ambos compuestos regulan una gran cantidad de reacciones como el apetito, y la saciedad, la percepción del dolor, la depresión y el ritmo del sueño. En un estudio realizado en adultos, Markus et al., (22) compararon el efecto de la ingesta de α -lactoalbúmina frente a la caseína sobre la respuesta al estrés, comprobando que entre los individuos susceptibles al estrés, aquellos que habían tomado α -lactoalbúmina mostraban menos episodios de depresión que los que ingerían caseína, asociando este hecho a un aumento de la concentración de triptófano en plasma. En un estudio posterior Markus et al., (23) ratificaron el aumento de triptófano en plasma tras el consumo de una dieta rica en α -lactoalbúmina respecto a la dieta control, observándose mejor función cognitiva en pacientes vulnerables a padecer un estado de depresión. Por otro lado, los niños recién nacidos pueden encontrarse en riesgo de insuficiente biodisponibilidad de triptófano para la síntesis óptima de serotonina en el cerebro. En este sentido, en un estudio realizado en niños por Yogman et al., (7) aquellos que

recibían triptófano entraban más rápidamente en episodios activos y de sueño que los que recibían valina o fórmula infantil estándar.

Los efectos beneficiosos de las fórmulas infantiles con concentraciones aumentadas en α -lactoalbúmina fueron mostrados por Heine et al., (24) en un estudio en el que una fórmula estándar, rica en proteína (18 g/L) y baja en α -lactoalbúmina fue comparada con otras dos fórmulas bajas en proteínas (13 g/L), y con una concentración intermedia y alta de α -lactoalbúmina. Sólo los recién nacidos que recibieron la fórmula con alta concentración de α -lactoalbúmina mostraron una concentración de triptófano sérico tan alto como los alimentados con leche humana. Este estudio demostró que el desarrollo de fórmulas infantiles bajas en proteínas pero enriquecidas con α -lactoalbúmina, supone un importante avance en el desarrollo de fórmulas infantiles más parecidas en composición a la leche humana. Sandström et al., (25) realizaron un estudio en recién nacidos sanos comparando un grupo alimentado con lactancia natural con otro alimentado con una fórmula estándar a base de proteínas del lactosuero y otras dos fórmulas ricas en α -lactoalbúmina (25%) con diferentes concentraciones de glicomacropéptidos (15% y 10%). Todas las fórmulas tenían la misma cantidad de proteína, sin embargo las fórmulas con 25% de α -lactoalbúmina contenían un 20% más de triptófano que la fórmula estándar. Este hecho dio lugar a una concentración plasmática del aminoácido similar al obtenido en los niños alimentados con leche materna. El nitrógeno ureico en sangre fue significativamente mayor en todos los niños alimentados con fórmula, en relación a los niños alimentados con leche materna y puesto que el crecimiento fue óptimo, estos autores propusieron disminuir la cantidad total de proteína en las fórmulas, siempre que ésta sea de alta calidad, ya que elevados niveles de proteína suponen una elevada carga renal. En este sentido Lien et al., (26) llevaron a cabo un estudio en el que evaluaron una fórmula con menor contenido proteico y enriquecida con α -lactoalbúmina, observando un patrón de crecimiento óptimo.

Son varios los estudios que investigan el efecto de las fórmulas infantiles enriquecidas con α -lactoalbúmina sobre el crecimiento de los lactantes y en todos los casos los resultados obtenidos demuestran un patrón de crecimiento más parecido al de los lactantes alimentados con leche materna que el de los niños alimentados con fórmulas estándar (25, 27, 28).

Efecto sobre la absorción de minerales

La unión de los minerales a péptidos procedentes de las proteínas del suero es menor y menos específica que la unión a péptidos originarios de la caseína, ya que tienen cargas negativas que unen eficientemente cationes divalentes (Fe^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} , Cu^{2+} y Se^{2+}). Sin embargo los péptidos que se producen mediante hidrólisis *in vitro* o *in vivo* de la proteína α -lactoalbúmina, captan los minerales actuando de transportadores pudiendo aumentar subdisponibilidad (29). Así, en un estudio realizado en monos Rhesus, Kelleher et al., (30) observaron que las fórmulas enriquecidas con α -lactoalbúmina producían un aumento en la absorción de zinc con respecto a los animales alimentados con leche materna. También observaron un aumento en la absorción de hierro pero sin diferencias estadísticamente significativas respecto al grupo control. Sin embargo, Sändstrom et al., (25) comprobaron un incremento en la absorción de hierro en niños alimentados con fórmulas ricas en α -lactoalbúmina (25%). Este aumento se reflejó en los niveles de hierro sérico, sin aparecer modificaciones en la ferritina sérica ni en el hematocrito. La concentración de minerales en las fórmulas es superior a la de la leche materna debido en muchos casos a su reducida absorción, pero la adición de α -lactoalbúmina podría conseguir una mayor biodisponibilidad de cationes divalentes, siendo necesario añadir una menor proporción del mineral a las fórmulas infantiles.

Actividad anticarcinogénica

En 1995 se observó una nueva actividad de esta proteína que despertó gran interés, Hakansson et al., (31) encontraron una forma multimérica de la α -lactoalbúmina con actividad antitumoral selectiva. Posteriormente se demostró que esta proteína unida al ácido graso C18:1:9 cis (ácido oleico) formaba un complejo (HAMLET/BAMLET: Human or Bovine Alpha-lactalbumin Made Lethal to Tumor cells) que también poseía actividad *in vitro* frente a diferentes tipos de tumores (32) induciendo apoptosis celular. Además, recientemente se ha demostrado *in vivo* el efecto terapéutico específico del complejo HAMLET sobre varios tumores como glioblastomas humanos, tumores en glándulas mamarias de ratón y también sobre el papiloma humano en el que se observó una reducción de las lesiones causadas por dicho virus en un 100% de los pacientes tratados con el complejo HAMLET (33).

Sin embargo, hasta ahora los beneficios sobre la salud de los neonatos de los productos derivados de la digestión de la leche, y la posible formación de los complejos HAMLET en alguna etapa determinada de la digestión, permanece sin esclarecer (11).

Actividad sobre el sistema inmune

En dos recientes estudios *in vitro* (34, 35) se ha demostrado la actividad positiva de las proteínas del lactosuero sobre el sistema inmune. Por otro lado estudios con cultivos celulares y estudios *in vivo* han demostrado que estas proteínas son capaces de aumentar la respuesta inmune no específica y específica (36, 37). La alta concentración de aminoácidos precursores de glutatión parecen ser la causa de los efectos inmunológicos producidos (38).

Actividad prebiótica

Según diversos autores, la α -lactoalbúmina estimula el crecimiento de bifidobacterias, uno de los grupos microbianos indicadores de la salud intestinal del niño. Este hecho fue observado por Kee et al., (39) en un estudio *in vitro* realizado con *Bifidobacterium longum* ATCC 15707 y los péptidos resultantes de la digestión de la proteína. Además, estos péptidos poseen un efecto inhibitorio sobre *Bacteroides*, *Clostridium* y *E. coli*, llegando a ser la reducción de estas bacterias potencialmente patógenas semejante a la que se observa en recién nacidos alimentados mediante lactancia materna (40). En un estudio *in vivo* realizado por Bruck et al., (41) se observó un ligero efecto bifidogénico en la población de niños alimentados con fórmulas enriquecidas con α -lactoalbúmina sólo en aquellos casos en los que la población de bacterias beneficiosas era en inicio muy baja (niños no alimentados con leche materna).

Actividad antimicrobiana

Son diversos los estudios *in vitro* que demuestran la actividad antimicrobiana de los péptidos que se producen tras la digestión de esta proteína Pihlanto-Lepälä et al., (42) indicaron que tanto la pepsina como la tripsina liberan péptidos a partir de la α -lactoalbúmina capaces de inhibir el crecimiento de *Escherichia coli*, mientras que la misma proteína sin ser sometida a hidrólisis carece completamente de efecto. Se demostró el efecto antimicrobiano que ejerce la α -lactoalbúmina, cuando es añadida a fórmulas infantiles, frente

a bacterias patógenas inoculadas en monos Rhesus (*Escherichia coli* enteropatógeno y *Salmonella thymurium*) (43). Por otro lado, tres de los polipéptidos liberados tras la digestión (mediante la acción de la tripsina y la quimotripsina) presentaron efecto antimicrobiano frente a *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococci* y *C. albicans* (44). Brück et al., (45) demostraron que las células Caco-2 expuestas a péptidos procedentes de la digestión tanto de la proteína α -lactoalbúmina como de glicomacropéptidos mostraban menor adhesión de los patógenos *Escherichia coli* enteropatógeno, *Shigella flexneri* y *Salmonella thymurium* respecto a las células control.

Otros efectos de la α -lactoalbúmina

Entre otras funciones atribuidas a los péptidos procedentes de la digestión de esta proteína se encuentra la actividad reductora de la presión sanguínea. Diversos estudios demuestran que diferentes péptidos procedentes de la proteína α -lactoalbúmina sometida a digestión enzimática, poseen actividad antihipertensiva (46, 47). Se ha demostrado también la capacidad antioxidante de los péptidos obtenidos de la digestión de la α -lactoalbúmina (48), las propiedades antiulcerativas y su actividad opioide (49, 50).

Conclusiones

El enriquecimiento de las fórmulas infantiles con α -lactoalbúmina permite obtener un producto con una composición proteica y aminoacídica más parecida a la leche humana, hecho que tiene una gran importancia desde un punto de vista nutricional al ser esta proteína una fuente natural de triptófano y cisteína. Además, es importante valorar la actividad biológica beneficiosa que puede producirse en el recién nacido alimentado con lactancia artificial con la incorporación de α -lactoalbúmina en su dieta, principalmente por su acción inmunoestimuladora y antimicrobiana, ya que en edades tempranas el sistema inmunológico no se encuentra suficientemente desarrollado, siendo mayor la incidencia de enfermedades gastrointestinales que los niños lactados a pecho.

REFERENCIAS

1. Koletzko B, Baker S, Cleghorn G, Neto UF, Gopalan S, Hernell O, et al. Global standard for the composition of infant formula. Recommendations of an ESPGHAN coordinated International Expert Group. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2005; 41:584–99.
2. Dorca J. Ingredientes funcionales en las formulas infantiles. *Bol Pediatr.* 2008; 48:347-52.
3. Lonnerdal B. Nutritional and physiologic significance of human milk proteins. *Am J Clin Nutr.* 2003; 77Suppl 6:S1537–43.
4. Haug A, Høstmark AT, Harstad OM. Bovine milk in human nutrition – a review. *Lipids Health Dis.* 2007; 6(25):1-16.
5. Heine WE, Klein PD, Reeds PJ. The importance of α -lactalbumin in infant nutrition. *J Nutr.* 1991; 121:277-83.
6. Rees L. Healthy digestion in infants. *SA Farm Pract.* 2005; 47(7):31-2.
7. Yogman MW, Zeisel SH, Roberts C. Assessing effects of serotonin precursors on newborn behavior. *J Psychiatr Res.* 1982; 17:123–33.
8. Lo CW. Human milk: nutritional properties. In: Walker WA, Watkins JB, editors. *Nutrition in pediatrics.* Canada: Hamilton: Decker BC. 1997; p.436–48.
9. Davis AM, Harris BJ, Lien EL, Pramuk K, Trabulsi J. α -Lactalbumin-rich infant formula fed to healthy term infants in a multicenter study: plasma essential amino acids and gastrointestinal tolerance. *Eur J Clin Nutr.* 2008; 62:1294–301.
10. Swaisgood HE. Nitrogenous components of milk. F. Protein and amino acid composition of bovine milk. In: Jensen RG, editor. *Handbook of milk composition.* New York: Academic Press. 1995; p. 464–8.
11. Chatterton DEW, Smithers G, Roupas P, Brodtkorb A. Bioactivity of β -lactoglobulin and α -lactalbumin—Technological implications for processing. *Int Dairy J.* 2006; 16(11):1229-40.
12. Jackson JG, Janszen DB, Lonnerdal B, Lien EL, Pramuck KP, Kuhlman CF. A multinational study of α -lactalbumin concentrations in human milk. *J Nutr Biochem.* 2004; 15:517–21.
13. Brodbeck U, Denton WL, Tanahashi N, Ebner KE. The Isolation and Identification of the B Protein of Lactose Synthetase as α -Lactalbumin. *J Biol Chem.* 1967; 242(7):1391-7.
14. Lien EL. 2003. Infant formulas with increased concentrations of α -lactalbumin. *Am J Clin Nutr.* 2003; 77Suppl 6:S1555–8.
15. Hill RL, Brew K. Lactose synthetase. *Adv. Enzymol.* 1975; 43:411-90.
16. Musci G, Berliner LJ. Physiological roles of zinc and calcium binding to α -lactalbumin in lactose biosynthesis. *Biochem.* 1985; 24:6945-8.
17. Rees L. Healthy digestion in infants. *SA Farm Pract.* 2005; 47(7):31-2.

18. Brew K, Castellino FJ, Vasaman TC, Hill RL. The complete amino acid sequence of bovine α -Lactalbumin. *J Biol Chem.* 1970; 245(17):4570-82.
19. Findlay JBC, Brew K. The complete amino-acid sequence of human α -lactalbumin. *Eur J Biochem.* 1972; 27:65-86
20. Permyakov EA, Berliner LJ. Lactalbumin: structure and function. *FEBS Lett.* 2000; 473: 269-74.
21. Anderson PJ, Brooks CL, Berliner LJ. Functional identification of calcium binding residues in bovine α -lactalbumin. *Biochem.* 1997; 36:11648-54.
22. Markus CR, Olivier B, Panhuysen GEM, Gugten JV, Alles MS, Tuiten A., et al. The bovine protein α -lactalbumin increases the plasma ratio of tryptophan to the other large neutral amino acids, and in vulnerable subjects raises brain serotonin activity, reduces cortisol concentration, and improves mood under stress. *Am J Clin Nutr.* 2000; 71:1536-44.
23. Markus CR, Olivier B, de Haan EH. Whey protein rich in α -lactalbumin increases the ratio of plasma tryptophan to the sum of the other large neutral amino acids and improves cognitive performance in stress-vulnerable subjects. *Am J Clin Nutr.* 2002; 75(6):1051-6.
24. Heine W, Radke M, Wutzke KD, Peters E, Kundt G. Alpha-lactalbumin- enriched low-protein infant formulas: a comparison to breast milk feeding. *Acta Paediatr.* 1996; 85:1024-8.
25. Sandström O, Lönnerdal B, Graverholt G, Hernell O. Effects of α -lactalbumin-enriched formula containing different concentrations of glycomacropeptide on infant nutrition. *Am J Clin Nutr.* 2008; 87(4):921-8.
26. Lien EL, Davis AM, Euler AR. Growth and safety in term infants fed reduced-protein formula with added bovine alpha-lactalbumin. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2004; 38:170-6.
27. Rochat F, Cherbut C, Barclay D, Puccio G, Fazzolari-Nescic A, Grathwohl D, Haschke F. A whey-predominant formula induces fecal microbiota similar to that found in breast-fed infants. *Nutr Res.* 2007; 27:735-40.
28. Trabulsi J, Capeding R, Lebumfacil J, Ramanujam K, Feng P, McSweeney S, et al. Effect of an α -lactalbumin-enriched infant formula with lower protein on growth. *Eur J Clin Nutr.* 2011; 65:167-174.
29. Kamau, SM, Cheison, SC. Chen W, Liu XM, Lu RR. Alpha-lactalbumin: Its production technologies and bioactive peptides. *Compr Rev Food Sci F.* 2010; 9:197-212.
30. Kelleher SL, Chatterton D, Nielsen K, Lönnerdal B. Glycomacropeptide and alpha-lactalbumin supplementation of infant formula affects growth and nutritional status in infant rhesus monkeys. *Am J Clin Nutr.* 2003; 77:1261-8.
31. Hakansson A, Svensson M, Mossberg A-K, Sabharwal H, Linse S, Lazou I et al. A folding variant of α -lactalbumin with bactericidal activity against *Streptococcus pneumoniae*. *Mol Microbiol.* 2000; 35(3):589-600.
32. Knyazeva EL, Grishchenko VM, Fadeev RS, Akatov VS, Permyakov SE, Permyakov EA. Who is Mr. HAMLET? Interaction of human α -Lactalbumin with Monomeric Oleic Acid. *Biochem.* 2008; 47:13127-37.
33. Gustafsson L, Hallgren O, Mossberg A-K, Pettersson J, Fischer W, Aronsson A, Svanborg C. HAMLET kills tumor cells by apoptosis: structure, cellular mechanisms, and therapy. *J Nutr.* 2005; 135:1299-303.
34. Saint-Sauveur D, Gauthier SF, Boutin Y, Montoni A, Fliss I. Effect of feeding whey peptide fractions on the immune response in healthy and *Escherichia coli* infected mice. *Int Dairy J.* 2009; (19):537-44.
35. Jacquot A, Gauthier Rejean FS, Drouin R, Boutin Y. Proliferative effects of synthetic peptides from β -lactoglobulin and α -lactalbumin on murine splenocytes. *Int Dairy J.* 2010; 20 (8): 514-21.
36. Gomez HF, Ochoa TJ, Herrera-Insua I, Carlin LG, Cleary TG. Lactoferrin protects rabbits from *Shigella flexneri*-induced inflammatory enteritis. *Infect Immun.* 2002; 70:7050-3.
37. Saint-Sauveur D, Gauthier SF, Boutin Y, Montoni A. Immunomodulating properties of a whey protein isolate, its enzymatic digest and peptide fractions. *Int Dairy J.* 2008; (18):260-70.
38. Madureira AR, Pereira CI, Gomes AMP, Pintado ME, Malcata FX. Bovine whey proteins-overview on their main biological properties. *Food Res Int.* 2007; 40:1197-211.
39. Kee HJ, Kim ER, Jung HK, Yun SS, Juhn SL, Hong YH. Effect of enzymatically hydrolyzed α -LA fractions with pepsin on growth-promoting of *Bifidobacterium longum* ATCC 15707. *Korean J Dairy Sci.* 1998; 20(1): 61-8.
40. Brück WM, Kelleher SL, Gibson GR, Nielsen KE, Chatterton DE, Lönnerdal B. rRNA probes used to quantify the effects of glycomacropeptide and α -lactalbumin supplementation on the predominant groups of intestinal bacteria of infant rhesus monkeys challenged with enteropathogenic *Escherichia coli*. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2003; 37 (3): 273-80.
41. Brück WM, Redgrave M, Tuohy KM, Lönnerdal B, Graverholt G, Hernell O et al. Effects of bovine α -lactalbumin and casein glycomacropeptide-enriched infant formulae on faecal microbiota in healthy term infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2006; 43:673-9.
42. Pihlanto-Leppälä A, Marnila P, Hubert L, Rokka T, Korhonen HJ, Karp M. The effect of α -lactalbumin and β -lactoglobulin hydrolysates on the metabolic ac-

- tivity of *Escherichia coli* JM103. J Appl Microbiol. 1999; 87(4):540–5.
43. Brück WM, Graverholt G, Gibson GR. Use of batch culture and a two-stage continuous culture system to study the effect of supplemental α -lactalbumin and glycomacropeptide on mixed populations of human gut bacteria. FEMS Microbiol Ecol. 2002; 41:231–7.
 44. Pellegrini A, Thomas U, Bramaz N, Hunziker P, Fellenberg R. Isolation and identification of three bactericidal domains in the bovine α -lactalbumin molecule. Biochem Biophys Acta. 1999; 1426:439–448.
 45. Brück WM, Kelleher SL, Gibson GR, Lönnerdal B. The effects of α -lactalbumin and glycomacropeptide on the association of CaCo-2 cells by enteropathogenic *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* and *Shigella flexneri*. FEMS Microbiol Lett. 2006; 259:158–62.
 46. Pihlanto-Leppälä A, Koskinen P, Piilola K, Tupasela T, Korhonen H. Angiotensin I-converting enzyme inhibitory properties of whey protein digest: concentration and characterization of active peptides. J Dairy Res. 2000; 67:53–64.
 47. Otte J, Shalaby SM, Zakora M, Pripp AH, El-Shabrawy SA. Angiotensin-converting enzyme inhibitory activity of milk protein hydrolysates: Effect of substrate, enzyme and time of hydrolysis. Int Dairy J 2007; 17:488–503.
 48. Hernández-Ledesma B, Quirós A, Amigo L, Recio I. Identification of bioactive peptides after digestion of human milk and infant formula with pepsin and pancreatin. Int Dairy J. 2007; 17:42–9.
 49. Antila P, Paakkari I, Järvinen A, Mattila MJ, Laukkanen M, Pihlanto-Leppälä A. Opioid peptides derived from *in vitro* proteolysis of whey proteins. Int Dairy J 1991; 1:215–29.
 50. Pihlanto-Leppälä A. Bioactive peptides derived from bovine whey proteins: opioid and ACE-inhibitory peptide. Trends Food Sci Technol. 2001; 11:347–56.
 51. Salami M, Yousefi R, Ehsani MR, Razavi H, Chobert JM, Haertl T, et al. Enzymatic digestion and antioxidant activity of the native and molten globule states of camel α -lactalbumin: Possible significance for use in infant formula. Int Dairy J. 2009; 19:518–23.
 52. Brück WM, Kelleher SL, Gibson GR, Nielsen KE, Chatterton DE, Lönnerdal B. rRNA probes used to quantify the effects of glycomacropeptide and α -lactalbumin supplementation on the predominant groups of intestinal bacteria of infant rhesus monkeys challenged with enteropathogenic *Escherichia coli*. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2003; 37(3): 273–80.
 53. Dupont C, Rivero M, Grillon C, Belaroussi N, Kalindjian A, Marin V. α -Lactalbumin-enriched and probiotic supplemented infant formula in infants with colic: growth and gastrointestinal tolerance. Eur J Clin Nutr. 2010; 64:765–7.
 54. Szymlek-Gay EA, Hernell O, Abrams SA, Lönnerdal B, Graverholt G, Domellöf M. α -lactalbumin and casein-glycomacropeptide have no effect on iron absorption from low-iron formula in healthy term infants. Pediatr Res. 2010; 1:12–3.

Recibido: 13-12-2011

Aceptado: 13-04-2012

El consumo elevado de licopeno sumado a una ingestión reducida de carnes rojas aumenta el poder antioxidante total

Diego Messina, Rafael Pérez Elizalde, Catalina Soto, Ana Uvilla,
José Daniel López Laur, Constanza López Fontana.

Laboratorio de Enfermedades Metabólicas y Cáncer. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad Juan Agustín Maza. Laboratorio de Hormonas y Biología del Cáncer. IMBECU, CONICET CCT-Mendoza.

RESUMEN. Los sistemas antioxidantes del cuerpo humano son capaces de remover a los radicales libres, protegiendo así al organismo del daño que estos pueden ocasionar, y pueden ser valorados en conjunto mediante la determinación del poder antioxidante total (TAS, por sus siglas en inglés). Este biomarcador es modulado por la alimentación mediante la incorporación de sustancias con propiedades antioxidantes o prooxidantes. El objetivo del presente trabajo fue estimar la ingestión de nutrientes antioxidantes y grupos específicos de alimentos y correlacionarla con el TAS. Fueron seleccionados al azar 45 sujetos de sexo masculino, entre 50 y 75 años, de una consulta médica de rutina. El trabajo consistió en una evaluación de TAS mediante técnica ABTS más una entrevista nutricional donde se evaluó la composición corporal mediante antropometría y la ingestión habitual de nutrientes y grupos específicos de alimentos mediante un recordatorio de 24 h y un cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos validado para tal fin. El análisis estadístico se realizó mediante Coeficiente de Correlación de Pearson o Spearman según la normalidad de la muestra ($p < 0,05$). El TAS se correlacionó positivamente con el consumo de licopeno ($r = 0,295$; $p = 0,049$) y negativamente con la ingestión de carnes rojas ($r = -0,403$; $p = 0,007$). Los demás nutrientes o alimentos no se correlacionaron con el TAS. Por lo tanto, una ingestión elevada de licopeno y un consumo reducido de carnes rojas ayudarían a mejorar el sistema antioxidante del organismo.

Palabras clave: Poder Antioxidante Total, licopeno, carne roja, antioxidantes

SUMMARY. High intake of lycopene together with low intake of red meat increases the total antioxidant status. The body's antioxidant systems are able to remove free radicals, thus protecting the body from the damage they may cause. They can be estimated, as a whole, through the determination of total antioxidant status (TAS). This biomarker can be modulated by dietary factors through the incorporation of substances with antioxidant or prooxidant properties. The aim of this study was to estimate the intake of antioxidant nutrients and specific food groups, and its correlation with TAS. Forty-five male volunteers between 50 and 75 years were randomly selected from a medical consultation. The study included a TAS determination by ABTS and a nutritional interview where corporal composition was studied through anthropometry and the habitual consumption of nutrients was estimated by means of 24 hour diary and food consumption frequency questionnaire. Statistical analysis was performed by using Pearson or Spearman correlation coefficient ($p < 0.05$). TAS was positively correlated with lycopene consumption ($r = 0,295$; $p = 0,049$), and negatively with red meat intake ($r = -0,403$; $p = 0,007$), while intake of other studied antioxidant nutrients did not correlate significantly with TAS. In conclusion, high intake of lycopene and reduced red meat consumption increase TAS.

Key words: Total Antioxidant Status, lycopene, red meat, antioxidants

INTRODUCCIÓN

El estrés oxidativo es un desequilibrio entre los radicales libres y los mecanismos de defensa antioxidante del organismo y genera alteraciones de la relación estructura-función en cualquier órgano, sistema o grupo celular especializado. Se lo reconoce como mecanismo general de daño celular, ya que daña las macromoléculas (lípidos, proteínas, hidratos de carbono y ácidos nucleicos) y altera los procesos ce-

lulares (funcionalidad de las membranas, producción de enzimas, respiración celular, inducción génica, etc.) favoreciendo al desarrollo de enfermedades tales como cáncer, artritis reumatoidea, enfermedades cardiovasculares y diabetes, entre otras (1, 2).

Los sistemas antioxidantes del organismo son capaces de remover a los radicales libres, protegiendo al organismo del daño que estos pueden ocasionar, y es posible valorarlos mediante la evaluación del poder antioxidante total (TAS, por sus siglas en inglés). Este

biomarcador considera la acción acumulativa de todos los antioxidantes presentes en la sangre y los fluidos corporales, siendo un parámetro integrado, más que una simple suma de antioxidantes medidos (3). En general, mide el efecto de tres sistemas de defensa en la circulación: *antioxidantes primarios* (enzimas y proteínas que previenen la formación de radicales libres), *antioxidantes secundarios* (vitaminas, carotenoides, flavonoides y otros compuestos que captan directamente a los radicales libres) y *antioxidantes terciarios* que incluyen enzimas reparadoras de ADN (4).

El TAS puede ser utilizado para valorar el riesgo de enfermedades crónicas asociadas con el estrés oxidativo (5) y es modulado por la alimentación mediante la incorporación de sustancias con propiedades antioxidantes o prooxidantes, ya que depende en parte del aporte de los antioxidantes secundarios mencionados.

Existe una gran variedad de nutrientes que poseen actividad antioxidante directa o indirecta, entre ellos, las vitaminas C y E, y los minerales cinc, cobre, manganeso, selenio y hierro. Todos ellos son indispensables para el organismo, ya que éste no puede sintetizarlos ni suplir sus funciones por mecanismos propios.

La vitamina C es un compuesto reductor que aporta electrones para regenerar la forma reducida activa de otros antioxidantes biológicos como glutatión, tocoferol y flavonoides (6). Por su parte, la vitamina E protege a los ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) de los fosfolípidos de las membranas biológicas y lipoproteínas del plasma. Así, actúa como antioxidante interrumpiendo la cadena de oxidaciones y previniendo la autooxidación adicional de lípidos. Luego reacciona con vitamina C u otros reductores (como glutatión), retornando a su estado reducido, es decir que se “recicla” constantemente gracias a otros antioxidantes (6). Este mecanismo es efectivo *in vitro*, pero no se conoce su eficacia *in vivo*, ya que la vitamina C tiende a localizarse en espacios acuosos, mientras que la vitamina E lo hace en espacios lipídicos (7).

El cinc y el cobre son cofactores de las enzimas *superóxido dismutasas*, capaces de remover al radical libre superóxido, tanto en el ambiente intracelular como extracelular. Otra superóxido dismutasa se localiza en las mitocondrias y requiere manganeso para funcionar. El hierro es un componente de la enzima *catalasa*, la cual se encuentra en los peroxisomas de las células y lleva a cabo funciones similares a la *glutatión peroxidasa*, es decir, la descomposición del pe-

róxido de hidrógeno en agua y oxígeno (7).

Otros compuestos con capacidad antioxidante son incorporados al organismo a través de los alimentos. Entre ellos se encuentran los carotenoides y los flavonoides. Los carotenoides, algunos de los cuales son precursores de vitamina A, son particularmente útiles para reaccionar con el oxígeno solitario, que si bien no representa un radical libre, es capaz de iniciar el estrés oxidativo (7), y para formar el oxígeno triatómico por interacción con el monoatómico, el cual es más reactivo que el primero. La función principal de aquellos carotenoides que no poseen oxígeno en la molécula es la formación de vitamina A, por lo que son considerados esenciales en ciertas condiciones. El beta-caroteno es el carotenoide con mayor actividad como pro-vitamina A, y el más habitual en la alimentación. El licopeno representa aproximadamente el 50% de los carotenoides en el plasma humano e, *in vitro*, se ha observado que es el que tiene la mayor capacidad de extinguir al oxígeno singlete. Por último, otro de los carotenoides más consumidos en la alimentación habitual es la luteína, que pertenece al subgrupo de las xantófilas, ya que posee dos grupos hidroxilo en su estructura química. En el organismo es transformada en ceaxantina, otro carotenoide, y ambos carecen de actividad como pro-vitamina A, pero son potentes antioxidantes al igual que los ya mencionados.

Finalmente, los flavonoides son un grupo muy diverso de metabolitos secundarios del reino vegetal, caracterizados por ser polifenólicos y muy solubles en agua. El ser humano los incorpora exclusivamente a través los alimentos de origen vegetal. Además de secuestrar radicales libres, quelar iones metálicos e inhibir oxidasas, los flavonoides pueden aumentar la disponibilidad de antioxidantes endógenos, así como la actividad de enzimas antioxidantes, al mismo tiempo que son capaces de inhibir enzimas involucradas en la generación de especies reactivas de oxígeno (8).

El objetivo del presente trabajo fue estimar la ingestión de nutrientes antioxidantes y grupos específicos de alimentos y correlacionarla con el TAS en un grupo de varones de la provincia de Mendoza, Argentina.

SUJETOS Y MÉTODOS

Población

La muestra estudiada estuvo constituida por 45 individuos de sexo masculino, entre 50 y 75 años de

edad, con peso estable (± 3 kg en tres meses), sin alteraciones endocrinas y/o metabólicas conocidas, y sin prescripción de medicamentos que alteren el TAS, seleccionados al azar a partir de una consulta médica de rutina. Fueron excluidos los voluntarios con un consumo habitual elevado de bebidas alcohólicas, drogas o fumadores, con patologías como hipertensión arterial, diabetes mellitus, dislipidemias y/o enfermedad tiroidea tratadas con fármacos, con obesidad tratada con cirugía y aquellos que hubieran participado en ensayos clínicos o intervenciones nutricionales en los últimos tres meses.

Diseño del estudio

El diseño del estudio epidemiológico fue transversal analítico. El trabajo consistió en una *entrevista nutricional* donde se evaluó la composición corporal a través de antropometría y una historia dietética detallada mediante recordatorio de 24 h y un cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos (CFCA) (9, 10) y, por último, un *análisis de laboratorio* que incluyó TAS.

Todos los hombres que participaron en el estudio firmaron un consentimiento escrito a un protocolo previamente aprobado por el Comité de Ética de la Universidad Nacional de Cuyo (Mendoza, Argentina).

Composición corporal

A todos los participantes se les evaluó la composición corporal mediante antropometría. Se midió peso corporal en una balanza (capacidad 150 kg y 100 g de precisión, marca CAM, modelo P-1003, Buenos Aires, Argentina). La estatura se midió en el estadiómetro metálico de la misma balanza, con una escala de 1 a 200 cm y una precisión de 0,5 cm. Se midieron los pliegues cutáneos (tricipital, bicipital, suprailíaco y subescapular), utilizando un plicómetro (HARPENDE con una precisión de 0,2 mm y apertura de 80 mm). Las circunferencias de cintura y cadera fueron medidas con una cinta métrica flexible inelástica con una escala de 10 mm (error 1 mm). Con los datos obtenidos se determinaron los siguientes parámetros indirectos: índice de masa corporal (IMC, kg/m^2), porcentaje de grasa corporal mediante ecuación de Durnin y Wommersley (6) y relación cintura/cadera.

Historia dietética

La determinación de la ingesta calórica dietética

proporciona una estimación cuantitativa y cualitativa de la ingesta de un alimento o nutriente durante un periodo determinado de tiempo, caracterizando el patrón alimentario de un sujeto o grupo de población (11). La historia dietética en este estudio se basó en un recuerdo de 24 h y un CFCA. Ambos métodos se emplean conjuntamente, ya que la utilización de los dos se complementa, obteniéndose una información más amplia y completa (12).

El recuerdo de 24hs fue realizado por una dietista entrenada y se destinaron alrededor de 45 minutos para la obtención de la descripción detallada de los alimentos y bebidas consumidas en el día anterior. Además, se utilizaron ayudas visuales, como fotografías de alimentos y platos cocinados, para precisar cantidades y porciones consumidas a partir de la información aportada por el voluntario. Los resultados de este método no fueron utilizados para el cálculo de nutrientes sino para elaborar sugerencias prácticas para orientar a los voluntarios una vez finalizado el estudio.

El CFCA que se ha utilizado en este estudio, ha sido previamente desarrollado, validado, probado y refinado por el Departamento de Nutrición de la Harvard School of Public Health (9) y luego fue traducido, adaptado y validado en España por Martin-Moreno y colaboradores (10). Debido a la falta de cuestionarios validados en la población argentina, la selección del presente CFCA se basó en que Argentina y España tienen costumbres alimentarias similares, y en que éste ha sido previamente utilizado en estudios en poblaciones masculinas de la Argentina (13).

Este cuestionario incluye una lista de 118 alimentos, estructurada y organizada de forma sistemática en 9 grupos de alimentos: lácteos; huevos, carnes y pescados; verduras y hortalizas; frutas; legumbres y cereales; aceites y grasas; bollería y pastelería; bebidas; y misceláneas. Tiene un carácter semicuantitativo ya que se indica una porción o cantidad de referencia y el voluntario debe completar con qué frecuencia consume ese alimento.

Una vez realizado el CFCA, se procedió a su conversión en nutrientes mediante un programa informático. Para ello, previamente, se transformaron las frecuencias declaradas de cada alimento en frecuencia alimento/día y se usó la tabla de composición de alimentos publicada por Mahan y Escott-Stump (14) para calcular la cantidad de macronutrientes (g/día) y micronutrientes (mg/día) ingeridas.

Análisis de laboratorio

Para la determinación del TAS, se extrajeron 5 ml de sangre venosa, se la dispuso en un tubo con EDTA (ácido etilendiaminotetraacético disódico) como anticoagulante. Las muestras se incubaron con ABTS (ácido 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico)) con peroxidasa (metmioglobina) y peróxido de hidrógeno (H₂O₂) para generar el catión ABTS• que presenta una coloración verde y se mide por espectrofotometría a 600 nm. Se utilizó como solución patrón estándar ácido 6-hidroxi- 2,5,7,8-tetrametilcloroman-2-carboxílico con una concentración de 2,04mmol/L, reconstituido con agua doblemente desionizada. La presencia de antioxidantes en la muestra de sangre entera produce una supresión de esta coloración, siendo esta supresión proporcional a la concentración de antioxidantes presentes en la muestra (Kit Total Antioxidant Status, Randox, Reino Unido). Los valores de referencia de este marcador están comprendidos entre 1,30 – 1,77 mmol/L.

Análisis estadístico:

Para el análisis estadístico se utilizó el programa SPSS para Windows versión 15.0 (SPSS Inc, Chicago, EE.UU.), seleccionándose los siguientes estadísticos descriptivos: media aritmética como medida de tendencia central y desviación estándar como medida de dispersión.

En lo que respecta a la estadística inferencial, para establecer posibles asociaciones entre los diferentes nutrientes antioxidantes y el TAS, se utilizó el coeficiente de correlación de Pearson o Spearman según el criterio de normalidad de las variables establecido con el test de normalidad de Kolmogorov-Smirnov. Se estableció la significancia estadística con un $p < 0,05$.

RESULTADOS

La edad promedio del grupo de voluntarios fue de $61,76 \pm 6,52$ años. El TAS medio fue de $1,58 \pm 0,61$ mmol/L, considerado normal según los valores de referencia. El peso medio de los pacientes fue de 94,6 kg, la talla promedio fue 1,73 m y el índice de masa corporal fue de $31,41 \text{ kg/m}^2$; la relación cintura/cadera fue igual a 1, y el porcentaje de masa corporal grasa fue de 32,06%. Estos datos pueden apreciarse con detalle en la Tabla 1.

TABLA 1.
Características generales y antropométricas de la población estudiada

Parámetro		Valor medio	Desviación estándar	Intervalo de confianza para la media al 95%
Edad	(años)	61,76	6,52	59,83 - 63,72
Peso	(kg)	94,6	15,84	89,84 - 99,36
Talla	(m)	1,73	0,07	1,72 - 1,76
IMC	(kg/m ²)	31,41	4,61	29,99 - 32,73
Relación cintura/cadera		1,00	0,08	0,98 - 1,02
Masa grasa	(%)	32,06	4,54	27,59 - 30,73

Por otra parte, el consumo diario de energía resultó esperable para las características nutricionales de la población ($2.270,93 \pm 629,8$ kcal). El porcentaje de la energía diaria aportado por hidratos de carbono fue igual a 44,73%, levemente menor al recomendado (50 a 55%); mientras que el aportado por proteínas fue de 17,02%, considerado normal; y el de lípidos fue de 29,52%, cercano al recomendado (30 a 35%). La diferencia restante en el consumo de energía corresponde al alcohol que resultó próximo al valor recomendado como máximo para la población masculina adulta por la American Heart Association (AHA, 30g o <10% de la energía diaria) (Tabla 2).

En cuanto al consumo habitual de vitaminas y minerales, el valor diario de vitamina C fue igual a 188,48 mg, superior al de referencia (90 mg), principalmente debido al consumo de suplementos y alimentos fortificados. Por otra parte, los individuos consumieron una cantidad media de vitamina E igual a 9,65 mg, inferior a la recomendación (15 mg). Respecto a los minerales, la cuota diaria de cinc fue de 12,41 mg, muy cercana a la sugerida para esta población (12 mg), mientras que la de hierro fue de 19,69 mg, superando ampliamente el valor de referencia (10 mg), mayoritariamente a causa de la inclusión de alimentos enriquecidos (por Ley N° 25.630 en Argentina), fortificados y el importante consumo de carnes rojas que predomina en la zona. Por último, el consumo de los carotenoides betacaroteno, licopeno y luteína fue de 8,94, 4,46 y 7,64 mg, respectivamente; pero hasta el momento no existen ingestiones recomendadas de tales sustancias (Tabla 3).

El TAS se correlacionó positivamente con el consumo de licopeno ($r=0,295$; $p=0,049$; Figura 1) y ne-

TABLA 2.
Consumo de macronutrientes estimado por CFCA

Nutriente		Valor medio	Desviación estándar	Intervalo de confianza para la media al 95%
Energía	(kcal)	2270,93	629,84	2081,70 - 2460,15
Carbohidratos	(g)	253,32	79,96	229,29 - 277,34
	(%)	44,73	8,49	42,03 - 47,12
Proteínas	(g)	94,18	22,04	87,56 - 100,80
	(%)	17,02	2,83	15,79 - 18,03
Lípidos	(g)	74,65	27,99	66,24 - 83,06
	(%)	29,52	6,44	27,78 - 31,12
Saturados	(g)	26,18	11,32	22,78 - 29,58
	(%)	34,72	5,41	33,20 - 36,43
Monoinsaturados	(g)	32,05	14,34	27,74 - 36,36
	(%)	42,26	6,54	40,09 - 44,48
Poliinsaturados	(g)	15,35	6	13,55 - 17,15
	(%)	21,33	5,76	20,22 - 23,55
Alcohol	(g)	29,88	29,07	21,14 - 38,61
	(%)	8,73	8,13	6,02 - 11,00

CFCA: cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos

TABLA 3.
Consumo de micronutrientes estimado por CFCA

Nutriente y compuestos bioactivos	Valor medio (mg/día)	Desviación estándar	Intervalo de confianza para la media al 95%
Vitamina C	188,48	85,32	162,84 - 214,12
Vitamina E	9,65	3,33	8,65 - 10,65
Vitamina B ₁	2,2	1,12	1,87 - 2,54
Vitamina B ₂	1,87	0,49	1,73 - 2,02
Vitamina B ₃	24,53	6,07	22,71 - 26,36
Vitamina B ₉	395,5	123,76	358,32 - 432,68
Betacaroteno	8,94	4,31	7,65 - 10,24
Licopeno	4,46	3,27	3,48 - 5,44
Luteína	7,64	4,51	6,29 - 9,00
Sodio	3420,92	1108,49	3087,89 - 3753,95
Potasio	3882,8	1067,29	3562,15 - 4203,45
Fósforo	1351,89	320,09	1255,73 - 1448,06
Calcio	1073,87	361,78	965,17 - 1182,56
Hierro	19,69	4,8	18,25 - 21,13
Cinc	12,41	3,14	11,47 - 13,35

CFCA: cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos

gativamente con el consumo de carnes rojas ($r = -0,403$; $p = 0,007$; Figura 2). La ingestión de los demás nutrientes y alimentos estimados no se correlacionó significativamente con el TAS.

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en este estudio muestran que el IMC, el porcentaje de masa grasa y la relación cintura/cadera de los individuos estudiados correspondieron a una población con obesidad. El IMC resultó superior a 30kg/m^2 , que según la clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS) corresponde a obesidad; el porcentaje de grasa corporal fue superior al 25%, valor de referencia para obesidad en varones de este grupo etario; y la relación cintura/cadera fue igual a 1, indicando una distribución anormal de grasa corporal abdominal, en concordancia con las características de la población estudiada.

Por su parte, el TAS medio fue normal, considerando los valores de referencia de esta determinación (1,3 a 1,77mmol/L).

En cuanto al análisis de la correlación entre el TAS y el consumo de antioxidantes y alimentos, solamente se encontró asociación positiva estadísticamente significativa con la ingestión de licopeno, la cual se correlacionó positivamente con el TAS, es decir que una mayor ingestión del carotenoide producirá un mayor TAS. Una explicación posible sería que la concentración plasmática de licopeno depende casi exclusivamente de su ingestión dietética, ya que no existe una homeostasis controlada, no se metaboliza en productos de-

TABLA 4
Consumo de alimentos estimado por CFCA

Grupo de alimentos	Valor medio (g/día)	Desviación estándar	Intervalo de confianza para la media al 95%
Vegetales	388,42	143,9	345,19 - 431,65
Crucíferas	15,97	23,97	8,77 - 23,17
Frutas	453,21	312,52	359,32 - 547,10
Carnes rojas	105,51	44,4	92,17 - 118,85
Carnes blancas	79,32	50,99	64,00 - 94,64
Pescados	40,97	38,57	29,38 - 52,56
Cereales	278,03	114,21	243,72 - 312,34
Legumbres	13,23	14,06	9,01 - 17,46
Vino tinto	217,96	226,34	149,96 - 285,96
Vino blanco	5,68	27,2	-16,35
Café	71,37	87,5	45,08 - 97,66
Té	50,48	133,58	10,34 - 90,61
Té verde	17,78	119,26	-71,66
Mate	75,55	172,48	23,73 - 127,36

CFCA: cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos

tectables en el organismo, no actúa como provitamina A (a diferencia del beta-caroteno) ni cumple funciones específicas. Este carotenoide es el más común en la sangre y su vida media es de 9 a 16 días (6), por lo que una ingestión periódica ayuda a mantener sus concentraciones séricas sin que decaigan. Existe evidencia de que neutraliza los radicales libres con mayor eficacia

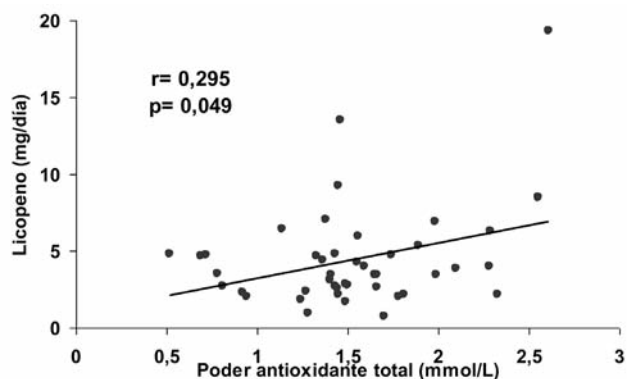


FIGURA 1

Correlación directa entre el consumo de licopeno y el TAS determinada mediante el Coeficiente de Correlación de Spearman debido a que la cantidad de licopeno ingerido no presentó una distribución normal según el test de normalidad de Kolmogorov-Smirnov.

que el beta-caroteno. Esta propiedad preventiva del daño oxidativo de las proteínas, los lípidos y el ADN, sería la más importante en la prevención de cánceres tales como el de próstata, mama, pulmón, de tipo gastrointestinal, cervical, de ovario, y pancreático (15). A esto se suman mecanismos de modulación de vías de señalización intracelulares tales como la inhibición de la proliferación celular, la inducción de la diferenciación celular y apoptosis, la potenciación del sistema inmune y la estimulación de la comunicación intercelular por uniones nexus (16-19).

Pocos estudios (20-22) han evaluado la relación directa entre la ingestión de licopeno (tanto alimentario como suplementario) con el TAS. Una investigación reciente concluyó que la suplementación con licopeno por cuatro meses incrementó significativamente el TAS en mujeres posmenopáusicas (20). En un estudio, en el cual se suplementó a los pacientes con polvo concentrado de frutas y vegetales (entre ellos, tomate), también se encontró un aumento en el poder antioxidante total (21). En otra investigación se observó que los niveles séricos de licopeno se corre-

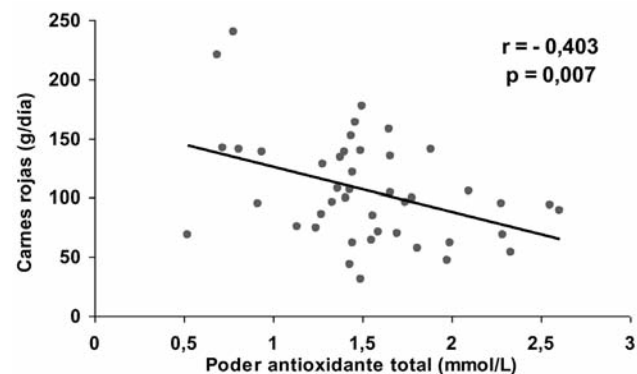


FIGURA 2

Correlación inversa entre la ingestión de carnes rojas y el TAS valorada mediante el Coeficiente de Correlación de Pearson ya que ambas variables presentaron una distribución normal según el test de normalidad de Kolmogorov-Smirnov.

lacionaron directamente con el TAS. Por lo que concluyeron que las intervenciones que aumenten la concentración de dicho carotenoide serían las más aptas para incrementar el TAS (22). En síntesis, debido a su potente efecto antioxidante en el torrente sanguíneo, el licopeno podría ser el componente de la dieta más apropiado para prevenir la formación de radicales libres o captarlos directamente.

Finalmente, se observó una correlación negativa entre el consumo de carnes rojas y el TAS. Durante mucho tiempo se ha sugerido que el consumo de carnes rojas procesadas o cocidas a altas temperaturas aumenta el riesgo de diversos tipos de cáncer (entre ellos, próstata, colon, estómago y ovario). Esto se debería a la formación de numerosos hidrocarburos aromáticos policíclicos y aminas heterocíclicas durante el procesamiento, que actúan como potentes mutágenos y carcinógenos (23), o al efecto genotóxico e hiperproliferativo del grupo hemo (24). Sin embargo, la evidencia actual no es concluyente respecto a esta asociación (25-27). Solo un estudio (29) ha analizado la asociación entre el TAS y el consumo de carnes rojas, y sus resultados fueron similares a los del presente trabajo, mostrando una correlación negativa ($r = -0,35$; $p = 0,02$) entre ambas variables, sumado a otras correlaciones positivas entre el TAS y el consumo de aceite de oliva ($r = 0,54$; $p = 0,002$), frutas ($r = 0,34$; $p < 0,001$) y vegetales ($r = 0,31$; $p < 0,001$). Debido a los escasos trabajos que analizan específicamente la relación entre el consumo de carnes rojas y el TAS, son necesarias futuras investigaciones que permitan dilucidar el mecanismo por el cual este grupo de alimentos disminuye el TAS.

A partir de los resultados obtenidos en este trabajo, queda de manifiesto la importancia del licopeno como sustancia antioxidante. Si bien es un compuesto no esencial para el organismo humano, no deja de ser beneficioso y accesible a través de la alimentación. Es prudente entonces, sugerir un aumento de su consumo en la alimentación habitual, particularmente a través de los subproductos del tomate, tales como salsas, extractos y todo tipo de concentrados. En estos alimentos, debido a la cocción, el procesamiento y el aumento de la concentración de los nutrientes, el licopeno se torna mucho más biodisponible (30), por lo que el beneficio sería óptimo. Tampoco pueden diseñarse otras fuentes alternativas de licopeno como la sandía, el pomelo rosado y la granada.

Por su parte y en concordancia con numerosas recomendaciones, es acertado sugerir una moderación en el consumo de carnes rojas, no solo por su acción en detrimento del TAS, sino también por su alto contenido de ácidos grasos saturados y colesterol. En su reemplazo, deberían incluirse carnes blancas de aves y pescados, huevos y proteínas de origen vegetal cuando fuera posible.

Finalmente, las limitaciones del trabajo fueron la falta de CFCA suficientemente validados en la Argentina, y la realización del recuerdo de 24hs solo un día por lo que los resultados obtenidos de éste debieron ser excluidos del cálculo de nutrientes y solo utilizados para la elaboración de recomendaciones para los voluntarios.

En conclusión, el licopeno fue el único nutriente que se correlacionó positivamente con el TAS, por lo que un mayor consumo de este carotenoide se asocia con una mayor defensa antioxidante en la circulación. Por otra parte, el consumo de carnes rojas se correlacionó negativamente con el TAS, por lo que una ingestión elevada de este grupo de alimentos actuaría en detrimento.

AGRADECIMIENTOS

Todos los autores agradecen a Carla Corte, Laura Locarno y Nicolás Di Milta por su excelente asistencia técnica. El presente trabajo ha sido subsidiado por la Universidad Juan Agustín Maza y la Fundación Allende, Argentina.

REFERENCIAS

1. Gutiérrez J. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. *Rev Cubana Med Milit.* 2002;31(2):126-133.
2. Elejalde Guerra JI. Estrés oxidativo, enfermedades y tratamientos antioxidantes. *An Med Interna.* 2001;18(6):326-335.
3. Ghiselli A, Serafini M, Natella F, Scaccini C. Total antioxidant capacity as a tool to assess redox status: critical view and experimental data. *Free Radic Biol Med.* 2000;29:1106-1114.
4. Halliwell B, Gutteridge JMC. The Antioxidants of Human Extracellular Fluids. *Arch Biochem Biophys.* 1990;280:1-8.
5. Haldar S, Rowland IR, Barnett YA, Bradbury I, Robson PJ, Powell J, et al. Influence of habitual diet on antioxidant status: a study in a population of vegeta-

- rians and omnivores. *Eur J Clin Nutr.* 2007;61(8):1011-1022.
6. Shils M, Olson J, Moshe S, Ross C. *Nutrición en Salud y Enfermedad.* 9ª ed. México: McGraw – Hill Interamericana Editores; 2002.
 7. Wardlaw G, Hampl J, DiSilvestro R. *Perspectivas en nutrición.* México: McGraw – Hill Interamericana Editores; 2005.
 8. Pérez Trueba G. Los flavonoides: antioxidantes o prooxidantes. *Rev Cubana Invest Bioméd.* 2003;22(1):48-57.
 9. Willett WC, Sampson L, Stampfer MJ, Rosner B, Bain C, Witschi J, et al. Reproducibility and validity of a semiquantitative food frequency questionnaire. *Am J Epidemiol.* 1985;122:51-65.
 10. Martín-Moreno JM, Boyle P, Gorgojo L, Maisonneuve P, Fernandez-Rodriguez JC, et al. Development and validation of a food frequency questionnaire in Spain. *Int J Epidemiol.* 1993;22:512-519 .
 11. Willett WC, Lenart E. Reproducibility and validity of food frequency questionnaires. En: *Nutritional Epidemiology.* (ed. Willett WC), 104-107. Ed. Oxford University Press, Boston. 1998.
 12. López-Fontana CM, Martínez-González MA, Sanchez-Villegas A, Martínez JA. Comparison between two methods to estimate physical activity in obese women: accelerometry and self-administered questionnaire. *Arch Latinoam Nutr.* 2005;55(3):257-66.
 13. López Fontana CM, Recalde Rincón GM, Messina Lombino D, Uvilla Recupero AL, Pérez Elizalde RF, López Laur JD. Body mass index and diet affect prostate cancer development. *Actas Urol Esp.* 2009;33(7):741-6.
 14. Mahan LK, Escott-Stump S. *Nutrición y dietoterapia de Krause.* 10ª Edición. Ed. Mc Graw Hill Interamericana. 2001.
 15. Waliszewski KN, Blasco G. Propiedades nutraceuticas del licopeno. *Salud Pública México.* 2010;52(3):254-265.
 16. Stahl W, Sies H. Lycopene: a biologically important carotenoid for humans?. *Arch Biochem Biophys.* 1996;94:259-264.
 17. Fleshner NE, Klotz LH. Diet, androgens, oxidative stress and prostate cancer susceptibility. *Cancer metastasis Rev.* 1999;17(4):325-330.
 18. Hassen F, Cantwell MM, O'Sullivan JM, Murray LJ. Is there a benefit from lycopene supplementation in men with prostate cancer? A systematic review. *Prostate Cancer Prostatic Dis.* 2009;12:325-332.
 19. Carotenoides en quimiopreención: Licopeno. *Acta bioquím clín latinoam* [online]. 2010; 44(2): 195-238.
 20. Mackinnon ES, Rao AV, Josse RG, Rao LG. Supplementation with the antioxidant lycopene significantly decreases oxidative stress parameters and the bone resorption marker N-telopeptide of type I collagen in postmenopausal women. *Osteoporos Int.* 2011; 22(4):1091-1101.
 21. Nantz MP, Rowe CA, Nieves C Jr, Percival SS. Immunity and antioxidant capacity in humans is enhanced by consumption of a dried, encapsulated fruit and vegetable juice concentrate. *J Nutr.* 2006;136(10):2606-2610.
 22. Djuric Z, Uhley VE, Naegeli L, Lababidi S, Macha S, Heilbrun LK. Plasma carotenoids, tocopherols, and antioxidant capacity in a 12-week intervention study to reduce fat and/or energy intakes. *Nutrition.* 2003;19(3):244-249.
 23. Mataix Verdú J. *Nutrición y Alimentación.* Barcelona, España: Editorial Océano; 2009.
 24. Ishikawa S, Tamaki S, Ohata M, Arihara K, Itoh M. Heme induces DNA damage and hyperproliferation of colonic epithelial cells via hydrogen peroxide produced by heme oxygenase: a possible mechanism of heme-induced colon cancer. *Mol Nutr Food Res.* 2010;54(8):1182-1191.
 25. Alexander DD, Morimoto LM, Mink PJ, Cushing CA. A review and meta-analysis of red and processed meat consumption and breast cancer. *Nutr Res Rev.* 2010;23(2):349-365.
 26. Alexander DD, Mink PJ, Cushing CA, Scourman B. A review and meta-analysis of prospective studies of red and processed meat intake and prostate cancer. *Nutr J.* 2010; 9:50.
 27. Alexander DD, Cushing CA. Red meat and colorectal cancer: a critical summary of prospective epidemiologic studies. *Obes Rev.* 2011;12(5):472-493.
 28. Kolahdooz F, van der Pols JC, Bain CJ, Marks GC, Hughes MC, Whiteman DC, et al. Meat, fish, and ovarian cancer risk: Results from 2 Australian case-control studies, a systematic review, and meta-analysis. *Am J Clin Nutr.* 2010;91(6):1752-1763.
 29. Pitsavos C, Panagiotakos DB, Tzima N, Chrysohoou C, Economou M, Zampelas A, et al. Adherence to the Mediterranean diet is associated with total antioxidant capacity in healthy adults: the ATTICA study. *Am J Clin Nutr.* 2005;82(3):694-699.
 30. Millen BE, Quatromoni PA. Nutritional research within the Framingham Heart Study. *J Nutr Health Aging.* 2001;5(3):139.

Recibido: 31-05-2011
Aceptado: 06-01-2012

Relación del consumo de alimentos de alto índice glicémico en la dieta y los niveles de HbA1c en individuos Diabéticos Tipo 2 en tratamiento con dieta y/o Metformina

Nicol Varela D., Claudia Vega S., Karen Valenzuela L.

Carrera Nutrición y Dietética. Facultad de Farmacia. Universidad de Valparaíso, Departamento Nutrición y Alimentos. Facultad de Farmacia. Universidad de Valparaíso, Programa Magister en Nutrición. Facultad de Medicina. Universidad de Chile

RESUMEN. En la actualidad aún no existe consenso acerca de recomendaciones claras sobre el uso de IG (índice glicémico) de los alimentos para el control dietético de la DM2 (diabetes mellitus 2). Distintas entidades proponen el uso de conteo de CHO (hidratos de carbono), pues no se cuenta con evidencia suficiente para la planificación dietética en base al IG. El objetivo de este estudio fue relacionar el consumo de alimentos de alto IG con el control glicémico de pacientes DM 2 del programa de salud cardiovascular de tres CESFAM (centro de salud familiar) de la comuna de Santiago, Chile. Se seleccionaron 40 sujetos a quienes se les realizó evaluación antropométrica y una encuesta de frecuencia de consumo alimentaria de 30 días modificada. Se obtuvieron IG, CG (carga glicémica), número de porciones de alto IG consumidas/día y cantidad de CHO totales consumidos/día. Éstos se correlacionaron con valores de HbA1c (hemoglobina glicosilada) de los últimos 3 meses obtenidos de la ficha clínica. La edad promedio total fue 58.6 ± 9.5 años. El porcentaje de obesidad fue 62,5% y el promedio IMC de 32.5. El valor promedio de HbA1c fue 7.08 ± 1.6 , para HbA1c <7% fue 57.5%. La cantidad total de CHO ingerida/día fue de 403.8 g. El promedio de IG y CG fue de 78.5 y 317.5 g respectivamente. El número total de porciones de alimentos con IG alto consumido al día fue 21.8. Se obtuvo correlación estadísticamente significativa entre HbA1c y número de porciones de alto IG ($r=0.56$ $p=0.002$). Para el resto de las variables no se encontró correlación con significancia estadística ($p>0.05$). Por cada porción extra de alimentos con alto IG se observó un aumento de la HbA1c en un 0,9%. En nuestra población estudiada la cantidad de alimentos con alto IG consumidos/día se correlacionó significativamente con los valores de HbA1c.

Palabras clave: Diabetes Mellitus 2, índice glicémico, carga glicémica, hemoglobina glicosilada, encuesta alimentaria.

SUMMARY. Relationship of consumption of high glycemic index food in the diet and levels of HbA1c in type 2 diabetic patients treated with diet and / or Metformin. At present there is still no clear consensus on recommendations on the use of GI of foods for the dietary management of T2DM. Rather different entities propose the use of carbohydrate counting, because there is not even enough evidence for dietary planning based on this index. The aim of this study was to relate consumption of high GI food with glycemic control of type 2 diabetes patients from the cardiovascular health program of 3 CESFAM (Family Health Centers) in Santiago, Chile. Forty individuals were selected, anthropometric measurements were conducted as well as a modified poll of frequency of food consumption of 30 days. Data from GI, GL, number of servings with high GI consumed per day and total amount of CARB consumed per day. Correlations were determined with values of HbA1c of the last 3 month obtained from the medical record. The average age was 58.6 ± 9.5 years. The percentage of obesity was 62,5% and the average BMI was 32,5. The average HbA1c value was 7.08 ± 1.6 , for HbA1c <7% it was 57,5%. The total amount of CARB ingested/day was 403,8 g. The average of GI and GL was 78.5 and 317.5 respectively. The total number of servings of food with high GI ingested per day was 21,8. There was a statistically significant correlation between HbA1c and number of servings with high GI ($r=0.56$ $p=0.002$). For the remaining variables there was no statistically significant correlation ($p>0.05$). For each extra serving of high GI food there was an increase of 0.9% of HbA1c. In our research population the amount of food with high GI ingested per day was significantly correlated with values of HbA1c.

Key words: Type 2 Diabetes Mellitus, glycemic index, glycemic load, glycosylated hemoglobin, food poll.

INTRODUCCIÓN

La diabetes mellitus 2 (DM 2) es una enfermedad crónica no transmisible cuya prevalencia ha ido creciendo en forma preocupante. Se estima que al año

2000, a nivel mundial, habían 171 millones de personas con diabetes, proyectándose para el año 2030 un aumento a 366 millones de personas (1). En Chile, según datos de la Encuesta Nacional de Salud (ENS) 2009-2010 su prevalencia aumentó de un 6,3% en el

año 2003 a un 9,4% en el año 2010 (2).

La ingesta alimentaria y tanto la cantidad como la composición de la ingesta son un punto clave en el desarrollo, control y prevención de la DM 2. Según la *American Diabetes Association* (ADA), la monitorización del consumo de CHO (hidratos de carbono), es una estrategia clave en el control glicémico de los pacientes con esta enfermedad (3).

El índice glicémico (IG) de los alimentos, es una medida de categorización de la calidad de los CHO según la capacidad de aumentar los niveles de glucosa sanguínea. El IG agrupa los alimentos en 3 categorías: IG bajo 0-55, IG intermedio 56-69 e IG alto ≥ 70 (4). El consumo de CHO con alto IG ha sido positivamente relacionado con el incremento del riesgo de padecer de DM2 (5, 6). Por otra parte, en el control de la diabetes, se ha visto que dietas con alimentos de bajo índice glicémico, producen un descenso moderado de los niveles de hemoglobina glicosilada (HbA1c) en comparación con dietas convencionales o con IG elevado (7). Del mismo modo una revisión sistemática publicada por Cochrane en año 2009, que incluyó 11 estudios randomizados controlados, mostró que dietas con bajo IG producen una mejoría en el control de la DM2 expresado en una baja significativa de la HbA1c, en comparación con aquellas de IG alto (8).

No existe consenso sobre la utilidad del IG. En el año 2002 la ADA estableció dentro de sus recomendaciones que a pesar de que el uso de alimentos con bajo IG puede reducir los episodios de hiperglicemia postprandial, aún no hay suficiente evidencia de beneficios a largo plazo para que la recomendación de dietas de IG bajo sea la estrategia principal en la planificación alimentaria en la DM (9). En las recomendaciones 2012 se indica que el uso de IG, junto con la carga glicémica (CG), sólo aportan un modesto beneficio por sobre dietas en las cuales la cantidad de CHO es considerada como única herramienta terapéutica (10). La Asociación Americana de Endocrinólogos Clínicos, por su parte, sugiere limitar el consumo de alimentos con IG alto, e indica que CHO con IG bajo pueden ayudar al control glicémico, pero en vista de la falta de evidencia, no recomienda una educación formal a los pacientes sobre los efectos positivos o negativos en la salud de los azúcares de la dieta (11). En nuestro país, Chile, la guía de garantías explícitas en salud (GES) del Ministerio de Salud para el manejo de la DM 2, recomienda consumir alimentos con un IG moderado a

bajo, señalando además que la incorporación de alimentos con un menor IG en diabéticos, en comparación con dietas estándar, reduce los niveles de HbA1c y de los niveles de colesterol LDL y triglicéridos (12).

La información entregada, plantea la necesidad de seguir investigando sobre la relación entre el IG y el control de la glicemia en pacientes diabéticos, para así aportar al manejo multidisciplinario que requiere esta enfermedad.

El objetivo de este estudio es relacionar el consumo de alimentos con alto IG con el control glicémico en pacientes con DM 2 del programa de salud cardiovascular de 3 centros de salud familiar de la comuna de Santiago.

MATERIALES Y METODOS

Sujetos:

El grupo estudiado comprendió a 40 hombres y mujeres mayores de 35 años, la muestra fue seleccionada en forma aleatoria por conveniencia, según adherencia de los sujetos a la citación y antigüedad de los exámenes de laboratorio. Todos los sujetos cumplieron los criterios de inclusión y exclusión, y fueron reclutados en tres centros de salud familiar (CESFAM) de la ciudad de Santiago, Chile.

Criterios de inclusión:

- Edad >20 años y < 85 años
- Tratamiento dietético o farmacológico (sólo Metformina)
- Sujetos sedentarios
- Último examen de HbA1c con antigüedad menor o igual a 3 meses.

Criterios de exclusión:

- Individuos con otro tipo de comorbilidades
- Usuarios de Metformina+otro fármaco, uso de otro (s) hipoglicemiantes (s) oral (es), uso de insulina+hipoglicemiantes orales, uso sólo de insulina.
- Presencia de cuadros agudos intercurrentes que alteren su habitual alimentación dentro del último mes.

Todos los pacientes firmaron un formulario de consentimiento informado antes de ingresar al estudio.

Diseño experimental

El estudio fue de tipo descriptivo y transversal. Se seleccionaron los sujetos a través de la revisión de fichas clínicas en base a los criterios de inclusión y ex-

clusión, luego se contactaron vía telefónica y fueron citados a los respectivos centros de salud, siendo 40 el número total de pacientes que aceptó participar del estudio. Los participantes fueron sometidos a evaluación nutricional antropométrica y alimentaria, a cargo de un profesional Nutricionista.

Determinaciones

Alimentación:

Se determinó el consumo de alimentos de alto índice glicémico (>70) según Foster Powell et al 2002 (13), mediante una encuesta de recordatorio de frecuencia de consumo modificada (14) que consideró 51 ítems de alimentos con IG mayor 70, se preguntó a los pacientes por el consumo habitual del último mes, considerando periodicidad y cantidad de los alimentos. Los pacientes fueron entrevistados por un profesional Nutricionista. Se calculó el aporte de CHO de la dieta mediante el uso del programa computacional Food Processor 2 (Food Processor II®, ESHA Research, Salem, OR, USA), el cual utiliza una base de datos de composición de alimentos Norteamericanos (15), la que es aplicable en este estudio porque sólo se consideró información de CHO y fibra dietética, estos últimos no registran cambios importantes al comparar la composición de alimentos de diferentes orígenes.

El IG de la dieta se obtuvo determinando la fracción de CHO que aporta cada alimento de la dieta respecto al total de CHO de la misma, luego se multiplicó el valor de IG de cada alimento por la fracción de CHO. Finalmente se sumaron los valores resultantes de la operación anterior y se obtuvo el IG de la dieta ($IG: \sum (CHO \text{ disp } A / CHO \text{ disp } Total) \times IG \text{ A}$) (16).

La CG de la dieta se obtuvo multiplicando la cantidad de CHO disponibles de la dieta por el índice glicémico de la misma ($CG: IG \text{ de la dieta } \times \text{Cont. de CHO disponibles de la dieta (g) / 100}$) (16).

En orden a determinar el número de porciones de alimentos alto IG que consumen los sujetos diabéticos estudiados se calculó el consumo de CHO diario por cada alimento de alto IG, y se dividió por el total de CHO que contiene una porción de intercambio de la pirámide alimentaria chilena (17). Ver ecuación 3.

Ecuación 3: N de porciones de intercambio de alimentos de alto IG consumidos en la dieta

N porciones: $\sum CHO \text{ totales alimento } Y \text{ por día} / CHO \text{ totales de una porción de intercambio alimento } Y$

- Hemoglobina Glicosilada:

Este indicador se obtuvo de las fichas clínicas de los sujetos estudiados, el método analítico para su determinación debía corresponder a HPLC (cromatografía líquida de alta precisión).

- Antropometría:

En condiciones estandarizadas se midió el peso (kg) utilizando una balanza digital SECA® (Vogel & Halke GMBH & Co Alemania) con una sensibilidad de 100 g, y talla (m) con un estadiómetro adosado a la balanza y con una variación de 0.1 cm. Las mediciones se realizaron por un profesional Nutricionista al mismo momento de realizar la encuesta alimentaria. Se calculó el IMC, considerándose normal un IMC entre 18,5 y 24,9 kg/m², sobrepeso un IMC entre 25 y 29,9 kg/m² y obesidad con $IMC \geq 30 \text{ kg/m}^2$.

Análisis estadístico:

Para el análisis de resultados, se calculó promedio y desviación estándar. Para la asociación de variables se utilizó el coeficiente de correlación de Spearman dado la distribución no paramétrica de los datos. Finalmente para ajustar por cada factor estudiado, se aplicó análisis de regresión multivariada. Se consideró como significativo un valor de probabilidad <0.05. Se utilizó el programa estadístico SPSS 10.0® (SPSS Inc, Chicago IL, USA).

RESULTADOS

El número fue de 40 pacientes, con una edad promedio para ambos sexos de 58.6 ± 9.5 años, un IMC promedio de 32.5, porcentaje de sobrepeso de 17.5% y de obesidad de 62.5%. El valor promedio de HbA1c en la población fue 7.08 ± 1.6 , mientras que para HbA1c <7% fue 57.5%.

De los tratamientos para la diabetes un 7.5% se encontraba solo con dieta, mientras el resto fue tratado con dieta más metformina (Tabla 1)

De los alimentos consumidos para el periodo estudiado, el promedio total de CHO fue 403.8 g/día con un aporte calórico diario total de 1615 calorías. El promedio de IG y CG fue de 78.5 y 317.5 respectivamente. El número total de porciones de alimentos con índice glicémico alto consumido al día fue 21.8 (Tabla 2).

Al realizar el análisis univariado por medio de correlación de Spearman entre valores de HbA1c y CG de los alimentos se obtuvo una correlación positiva

TABLA 1
Caracterización general de la muestra

	Total	Mujeres	Hombres
n	40	30	10
Edad (años)	58,6 ± 9,5	57,6 ± 9,9	61,4 ± 7,9
IMC	32,5 ± 5,8	33,43 ± 6,0	29,7 ± 4,6
Sobrepeso %	17,5	13,3	40
Obesidad %	62,5	73,4	30
Niveles HbA1c (%)	7,08 ± 1,6	6,7 ± 1,2	8,1 ± 2,6
HbA1c <7% (%)	57,5	47,5	10
Tratamiento diabetes (% total y n°)			
Dieta	7,50%	10	0
Dieta y Metformina	92,50%	90	100

TABLA 2
Caracterización de la alimentación

	Total	
	\bar{X}	DE
CHO de la dieta (g)	403.8 ±	110.7
IG de la dieta	78.5 ±	3.4
CG de la dieta	317.5 ±	88.3
Nº porciones alto IG de la dieta	21.8 ±	6.5

TABLA 3
Análisis univariado de correlación entre HbA1c y distintos parámetros dietarios

HbA1c	Spearman's rho	P
CHO de la dieta (g)	0.3089	0.0525
IG de la dieta	0.0756	0.6431
CG de la dieta	0.3017	0.0585
Nº porciones alto IG de la dieta	0.5618	0.0002

Correlación entre número de porciones de índice glicémico elevado y HbA1c

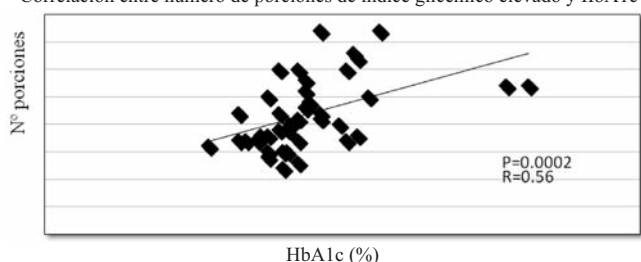


FIGURA 1

Correlación de Spearman entre número de porciones de índice glicémico elevado consumidas por día y niveles de HbA1c.

pero no significativa ($p > 0.05$), al igual que entre valores de HbA1c e IG, y HbA1c y cantidad total de CHO consumida por día (Tabla 3).

Al buscar correlación entre el número total de porciones de índice glicémico alto consumido por día y los niveles de HbA1c esta fue estadísticamente significativa ($p = 0.002$) con un $R^2 = 0.56$. (Figura 1)

Al buscar correlación univariada entre valores de HbA1c y valores de IMC no se observó correlación entre las 2 variables ($R = 0.052$ $p = 0.7$). Tampoco al incluir en el análisis sólo a paciente obesos.

Al controlar los valores de HbA1c por sexo, edad y número de porciones (variables que se consideraron independientes entre si), mediante un modelo de regresión lineal múltiple se obtuvo un $R^2 = 0.4$ con un $p = 0.002$ (datos no mostrados), lo cual explicaría que en forma estadísticamente significativa, un 40% de la variabilidad de los valores que presenta la HbA1c en este estudio, están dados por la influencia de los factores de control mencionados. En la relación entre sexo y HbA1c se observó que ser hombre se asocia a un aumento significativo de los valores de HbA1c, al contrario de lo que ocurre con la edad, ya que por cada año extra la HbA1c descendería en 0,44% (Coef B - 0.04). En relación con el número total de porciones de alimentos con alto índice glicémico consumidas por día, se indica que por cada porción extra consumida, la HbA1c aumenta en un 0,9%. Todas estas asociaciones fueron significativas ($p < 0.05$) (Tabla 4).

TABLA 4
Asociación multivariada entre HbA1c y factores de control independientes

HbA1c	Coefficiente B	Intervalo de confianza 95%	P
Sexo (masculino)	1.493.709	0.0330469 2.954371	0.045*
Edad	-0.0474558	-0.0911397 -0.003772	0.034*
Nº porciones IG elevado/ día	0.0967926	0.0406456 0.1529397	0.001*

* $p < 0,05$

DISCUSIÓN

Uno de los factores más importantes que se relaciona con la incidencia de DM 2 es la presencia de obesidad, numerosos estudios destacan la importancia de mantener un peso saludable para disminuir el riesgo de padecer DM 2 (18, 19, 20). En el grupo estudiado la prevalencia de obesidad es de 62,5%, valor mayor

a lo encontrado en la población general según la última encuesta nacional de salud de Chile, donde la obesidad alcanza un 30% en la población mayor a 25 años (2). Esto es coherente con la susceptibilidad que presenta la población con exceso de peso a desarrollar DM 2.

Por otra parte, la mayoría de los pacientes (92%) se encontraban con tratamiento farmacológico, situación concordante con los algoritmos terapéuticos propuestos por el Ministerio de salud de Chile (12), para los pacientes en tratamiento inicial de DM 2.

El 57,5% de la población estudiada se encontraba dentro de la meta recomendada como objetivo de control glicémico en sujetos DM 2, es decir HbA1c < 7% (10), valor mayor a lo encontrado en la ENS 2010 donde solo un 34% de la población DM 2 cumplía la meta terapéutica establecida por la ADA. Del total de mujeres estudiadas, un 63% se encontraba dentro de la meta terapéutica y un 40% de los hombres, esta distribución concuerda con lo observado en la ENS 2010 (2).

El objetivo más importante del tratamiento médico-nutricional de la DM 2 es el control del metabolismo de los CHO, el cual debiera traducirse en niveles de glicemia adecuados y en la consecuente prevención de complicaciones secundarias (21). La principal recomendación para la ingesta de CHO en la dieta se centra en la cantidad (10), la cual no debiera superar el 60% del valor calórico total, es decir una dieta de 2000 kcal/día (valor estándar para un adulto), debería aportar como máximo 300 g de CHO (21). El grupo estudiado presenta un consumo promedio de 403, 8 g de CHO al día, valor muy por sobre lo recomendado, considerando además que corresponde a un grupo en su mayoría con obesidad donde la recomendación de energía al día está por debajo de la de un sujeto estándar (1400-1600 kcal/día).

Respecto a la CG, el promedio fue de 317.5 ± 88.3 g/día; valor sobre lo recomendado para estos sujetos, el cual no debiera superar los 140 g/día, considerando un valor de IG de la dieta menor o igual a 55 y una recomendación de CHO entre 200 y 250 g/día (22). Es válido considerar que estos valores pudieron verse afectados por la técnica empleada para determinar el consumo dietético (EFCC).

Al correlacionar la cantidad de CHO consumidos en el día con la HbA1c, se obtiene una asociación positiva débil ($r=0,3$) y no significativa ($p=0,052$). Este hallazgo coincide con otros autores quienes no han encontrado una asociación entre la ingesta total de CHO

en la dieta y el control glicémico medido a través de la HbA1c (23,24). Sólo se han evidenciado efectos de terapias asociadas a conteo de CHO relacionado con los niveles de HbA1c en sujetos DM 2 con insulino-terapia (25,26) y en pacientes sometidos a dietas muy bajas en CHO (<20% del valor calórico total) (27,28).

Por otro lado la calidad de CHO de la dieta, evaluado por medio del IG y la CG, “podrían otorgar un modesto beneficio adicional al tratamiento dietoterapéutico de la DM 2” según la ADA (10). En este estudio se encontraron asociaciones no significativas entre el IG ($r=0,07$; $p=0,64$) y la CG de la dieta ($r=0,30$; $p=0,058$) con la HbA1c, lo que implicaría que la calidad de CHO de la dieta no influye en el control metabólico de los sujetos DM 2. Este hallazgo coincide con lo reportado por algunos autores que han estudiado en forma experimental la asociación entre el IG y la CG de la dieta y el control glicémico en pacientes DM 2 medido a través de la HbA1c (29,30). La falta de correlación significativa entre el IG, la CG de la dieta y la HbA1c en el presente estudio, también podría deberse a las limitaciones del método utilizado en el estudio que impide estimar en forma precisa el IG y la CG de la dieta, puesto que la encuesta de frecuencia de consumo no entrega información de la composición de cada tiempo de comida, que acostumbran consumir los sujetos.

Con el fin de obtener un indicador representativo del consumo frecuente de alimentos, se decidió estimar la cantidad de porciones de intercambio de alimentos de alto IG (>70) que consumían al día los sujetos estudiados, obteniéndose una asociación positiva significativa ($r=0,56$; $p=0,0002$) entre la cantidad de porciones de alimentos de alto IG consumidas en el día con los niveles de HbA1c. Este hallazgo coincide con estudios experimentales que comparan el efecto del consumo de dietas de alto y bajo IG sobre la HbA1c, encontrándose que los sujetos que consumen dietas de bajo IG disminuyen un 0,5% los niveles de HbA1c versus aquellos que consumen dietas de alto IG (8). Sin embargo es importante destacar que no hay estudios descriptivos que hayan correlacionado específicamente (como se hizo en este estudio) el número de porciones de consumo habitual de alimentos de alto IG con la HbA1c.

Es importante destacar que al ajustar los resultados por edad y género, el consumo de alimentos de alto IG continua siendo un factor importante, influyendo

sobre la HbA1c en un 0,9% por cada porción extra de consumo reportada. Un estudio descriptivo que correlaciona el IG de la dieta con el control glicémico (HbA1c) el en cual se realiza el ajuste por edad, género y otras variables estudiadas, se obtuvo que el IG de la dieta influye en forma independiente sobre el control glicémico en sujetos diabéticos tipo 1 (31). Otro estudio reciente (CCD), donde se evaluó el efecto de dietas de bajo IG sobre la respuesta glicémica, demostró que los sujetos DM 2 que consumieron dietas de bajo IG mejoraban significativamente la respuesta glicémica en comparación con los sujetos que consumieron dietas de alto IG, tras 12 meses de intervención (32).

CONCLUSIÓN

No se demuestra asociación significativa entre el IG, la CG de la dieta y la HbA1c en pacientes DM 2. Sin embargo el número de porciones al día que los sujetos consumen de alto IG (mayor a 70) se asocia en forma positiva y significativa con los niveles de HbA1c en sujetos DM 2 de nuestra población. Este estudio constituye una evidencia más de lo controvertido que resulta recomendar la utilización del concepto de IG y CG para la consejería nutricional en sujetos DM 2 y enfatiza la necesidad de contar con nuevas investigaciones en el área.

AGRADECIMIENTOS

Nuestro más sincero agradecimiento a la Dra. Gloria López S. por su colaboración la revisión de este documento y a los Centros de Salud Familiar El Aguilucho, Felix de Amesti y Agustín Cruz Melo de la ciudad de Santiago, por facilitar el acceso a los pacientes.

REFERENCIAS

1. Wild S, Roglic G, Creen A, Sicree, King H. Global Prevalence of Diabetes. Estimates for the year 2000 and Projections for 2030. *Diabetes Care* 2004; 27:1047-1053
2. Ministerio de Salud de Chile. Encuesta nacional de salud ENS 2009-2010. Disponible en: <http://www.redsalud.gov.cl/portal/url/item/99bbf09a908d3eb8e04001011f014b49.pdf>
3. Diabetes American Association. Standars of Medical Care in Diabetes. *Diabetes Care* 2009;32:13-61.
4. Arteaga A. El índice glicémico. Una controversia actual. *Nutr.Hosp.* 2006; 21 (supl.2): 55-60.
5. Willet W, Manson J, Liu, S. Glycemic index and Glycemic load and risk of type 2 Diabetes. *Am J Clin Nutr* 2002; 76 (suppl):274S-80S.
6. Salmeron J, Manson JE, Stampfer MJ, Colditz GA, Wing AL, Willet WC. Dietary fiber, glycemic load, and risk of non-insulin-dependent diabetes mellitus in women. *JAMA* 1997;277: 472-477.
7. Brand-Miller J, Hayne S, Petocz P, Colagiuri S. Low-Glycemic Index in the Management of Diabetes. *Diabetes care* 2003; 26: 2261-2267.
8. Thomas D, Elliot E. Low glycaemic index, or low glycaemic load, diets for diabetes mellitus. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2009 Jan 21;(1):CD006296
9. Diabetes American Association. Evidence based nutrition principles and recommendations for the treatment and prevention of diabetes and related complications. *Diabetes Care* 2002; 25:202-212.
10. Diabetes American Association. Position Statements. Standards of Medical Care in Diabetes 2012. *Diabetes Care* 2012 Jan; 35 Suppl 1:S11-63.
11. American Association of Clinical Endocrinologists. *Endocr. Pract.* 2011; 2:1-53.
12. Ministerio de Salud de Chile. Guia GES 2009. Disponible en: <http://www.redsalud.gov.cl/portal/url/item/72213ed52c3e23d1e04001011f011398.pdf>
13. Foster K, HA Holt S, Brand- Millar J. International table of glycemic index and glycemic load values. *Am. J. Clin.* 2002; 76:5-56
14. Rebolledo A. Encuestas Alimentarias. *Rev. Chil. Nutr.* 1998; 25: 28-34.
15. Schmidt-Hebbel, Pennacchiotti I, Masson L, Mella M. Tabla de composición química de alimentos Chilenos. Santiago: Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile; 1990.
16. FAO/WHO Expert Consultation. Carbohydrates in human nutrition: report of a joint FAO/WHO Expert Consultation, Rome, 14-18 April 1997. Rome: Food and Agriculture Organization, 1998. (FAO Food and Nutrition paper 66.)
17. Jury G, Urteaga C, Taibo M. Porciones de intercambio y composición química de los alimentos de la pirámide alimentaria chilena. Instituto de nutrición y tecnología de los alimentos (INTA), Universidad de Chile 2009.
18. Grundy SM. Metabolic complications of obesity. *Endocrine* 2000; 13:155-65
19. Mokdad AH, Bowman BA, Ford ES, Vinicor F, Marks JS, Koplan JP. The continuing epidemics of obesity and diabetes in the United States. *JAMA* 2000; 286:1195-200
20. Hu FB, Manson JE, Stampfer MJ, Colditz G, Liu S, et

- al. Diet, lifestyle, and the risk of type 2 diabetes mellitus in women. *N. Engl. J. Med.* 2001; 345:790-97
21. American Diabetes Association. Position Statements. Nutrition Recommendations and Interventions for Diabetes. *Diabetes Care* 2008; 31:s61-s78
22. The University of Sidney. About Glycemic index. Disponible en www.glycemicindex.com, (visitado el 30 de abril del 2012).
23. Wolever TMS, et al. The Canadian Trial of Carbohydrates in Diabetes (CCD), a 1-y controlled trial of low-glycemic-index dietary carbohydrate in type 2 diabetes: No effect on glycosylated hemoglobin but reduction in C-reactive protein. *Am. J. Clin. Nutr.* 2008;87:114-125.
- 24.- Davis NJ, et al.. Comparative study of the effects of a 1-year dietary intervention of a low-carbohydrate diet versus a low-fat diet on weight and glycemic control in type 2 diabetes. *Diabetes Care.* 2009;32:1147-1152.
- 25.- Lowe J, Linjawi S, Mensch M, James K, Attia J. Flexible eating and flexible insulin dosing in patients with diabetes: Results of an intensive self-management course. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 2008;80:439-443.
- 26.- Bergenstal RM, et al. Adjust to target in type 2 diabetes: Comparison of a simple algorithm with carbohydrate counting for adjustment of mealtime insulin glulisine. *Diabetes Care.* 2008;31:1305-1310
- 27.- Boden G, Sargrad K, Homko C, Mozzoli M, Stein TP. Effect of a low-carbohydrate diet on appetite, blood glucose levels, and insulin resistance in obese patients with type 2 diabetes. *Ann. Intern. Med.* 2005;142:403-411.
- 28.- Nielsen JV, Joensson EA. Low-carbohydrate diet in type 2 diabetes: Stable improvement of bodyweight and glycemic control during 44 months follow-up. *Nutr. Metab.* 2008;5:14-19.
- 29.- Wolever TM, et al. Low glycaemic index diet and disposition index in type 2 diabetes (the Canadian Trial of Carbohydrates in Diabetes): A randomized controlled trial. *Diabetologia.* 2008;51:1607-1615.
- 30.- Amano Y, et al. Glycemic index-based nutritional education improves blood glucose control in Japanese adults. *Diabetes Care.* 2007;30:1874-1876.
- 31.- Wolever TMS, et al. Day-to-day consistency in amount and source of carbohydrate intake associated with improved glucose control in type 1 diabetes. *J. Am. Coll. Nutr.* 1999;18:242-247.
- 32.- Wolever TMS, et al., Altering source or amount of dietary carbohydrate has acute and chronic effects on postprandial glucose and triglycerides in type 2 diabetes: Canadian trial of Carbohydrates in Diabetes (CCD), *Nutr. Metab. & Cardiovasc. Dis.* 2012; XX:1-8.

Recibido: 17-10-2011

Aceptado: 03-05-2012

COMPLETE YOUR ARCHIVOS LATINOAMERICANOS DE NUTRICION. ALAN. COLLECTION



Dear subscriber:

We are offering the opportunity to complete your ALAN collection at *discounted* prices

Just inform us of your missing issues (Volume and Number) by writing to

EDITORIAL OFFICE

Apartado 62778

Chacao

Fax: (58-212) 286.0061

Caracas 1060

Venezuela

email: info@alanrevista.org

You will receive availability confirmation and a price quotation

Calcium supplementation, bone mineral density and bone mineral content. Predictors of bone mass changes in adolescent mothers during the 6-month postpartum period

Agustina Malpeli, María Apezteguia, José L. Mansur, Alicia Armanini, Melisa Macías Couret, Rosa Villalobos, Marta Kuzminczuk and Horacio F. Gonzalez

IDIP – Instituto de Desarrollo e Investigaciones Pediátricas “Prof. D. Fernando E. Viteri”,
Hospital de Niños de La Plata, (MS/CIC-PBA), La Plata, Argentina

SUMMARY. We determined the effect of calcium supplementation on bone mineral density (BMD) and bone mineral content (BMC) and identified predictors of bone mass changes in adolescent mothers 6 months postpartum. A prospective, analytical, clinical study was performed in adolescent mothers (≤ 19 years old; $n=37$) from La Plata, Argentina. At 15 days postpartum, mothers were randomly assigned into one of two groups and started with calcium supplementation; one group received dairy products (932 mg Ca; $n=19$) and the other calcium citrate tablets (1000 mg calcium/day; $n=18$). Weight, height and dietary intake were measured and BMD was determined by DEXA at 15 days (baseline) and 6 months postpartum. BMC, total body BMD and BMD were assessed in lumbar spine, femoral neck, trochanter and total hip. Regression models were used to identify the relationship of total body BMD and BMC with independent variables (calcium supplementation, months of lactation, weight at 6 months, percent weight change, lean mass at 6 months, percent lean mass change, total calcium intake). Results showed that changes in BMD and BMC at the different sites were similar in both groups, and changes in percent body weight and total calcium intake were the main predictive factors. In conclusion, the effect of calcium was similar with either form of supplementation, i.e., dairy products or tablets, and changes in percent body weight and total calcium intake were predictors of total body BMD and BMC changes.

Key words: Calcium supplementation, bone mineral density, bone mineral content, adolescent mothers, body composition, calcium citrate, dairy product.

RESUMEN. Suplementación con calcio, densidad mineral ósea y contenido mineral óseo. Predictores de cambios en la masa ósea en madres adolescentes a los 6 meses postparto.

El objetivo del estudio fue determinar el efecto de dos formas de suplementar calcio sobre la densidad mineral ósea (DMO) y el contenido mineral óseo (CMO), e identificar predictores de cambios en la masa ósea en madres adolescentes a los 6 meses postparto. Se realizó un estudio prospectivo, analítico y clínico en madres adolescentes (≤ 19 años; $n=37$) de la ciudad de La Plata, Argentina. A partir de los 15 días postparto, las adolescentes fueron distribuidas al azar en 2 grupos y comenzaron con la suplementación con calcio; un grupo recibió productos lácteos (932 mg Ca; $n=19$) y el otro citrato de calcio (1000 mg calcio/día; $n=18$). Se midió peso, altura y consumo de alimentos y se determinó la DMO por DEXA a los 15 días (línea de base) y a los 6 meses postparto. También se determinó CMO, DMO corporal total y DMO de columna lumbar, cuello femoral, trocánter y cadera total. Se usaron modelos de regresión para identificar relaciones entre DMO corporal total y CMO con variables independientes (tipo de suplementación, meses de lactancia, peso a los 6 meses, porcentaje de cambio de peso, masa magra a los 6 meses, porcentaje de cambio de masa magra, consumo total de calcio). Los resultados muestran que los cambios en DMO y CMO en los distintos sitios fueron similares en ambos grupos, y que los cambios en los porcentajes de peso corporal e ingesta total de calcio fueron los principales factores predictivos. En conclusión, el efecto del calcio fue similar tanto con productos lácteos como con comprimidos. Los cambios porcentuales en peso corporal e ingesta total de calcio resultaron factores predictivos de los cambios de la DMO corporal total y el CMO.

Palabras clave: Suplementación con calcio, densidad mineral ósea, contenido mineral óseo, madres adolescentes, composición corporal, citrato de calcio, productos lácteos.

INTRODUCTION

Bone mass loss and recovery after weaning and resumption of menses have been reported in both lactating adult (1-6) and adolescent (7,8) mothers. In an earlier report of adolescent mothers, we found a significant bone mineral density (BMD) loss at the hip

(5%) and in total body BMD (2%), with subsequent bone mass recovery during the 12-month follow-up (8). Such recovery occurred during the early postpartum period and was not related to eventual BMD losses during pregnancy, being slightly lower in younger mothers and in those who had not resumed menses.

Calcium supplementation during lactation has been studied in lactating adult (9,10) and adolescent (11) mothers. In adult women, calcium salts did not have a marked effect; Prentice et al. (9) suggest that breastfeeding women with low calcium intake may not benefit from calcium supplementation, and that the physiological mechanisms developed during lactation provide the necessary calcium for milk production. In the case of Kalwarf et al. (10), the authors found that supplementation with 1 g calcium per day does not prevent bone mass loss during lactation, observing a light improvement in bone mass gain after weaning. On the other hand, Chan et al. (11) have suggested that an adequate calcium intake (dairy products and calcium rich food) may prevent bone loss during lactation in adolescent mothers, and Abrams (12), in an editorial reviewing the effects of calcium supplementation, concludes that adult breastfeeding women would not benefit from a higher calcium intake, but emphasizes the importance of the nutrient in the reproductive cycle. The mentioned author further reports that adolescent breastfeeding mothers are a very important risk group that could benefit from such supplement. In this regard, the percentage of births to women under 20 years of age in Argentina amounts to 15.6% (13), and the National Nutrition and Health Survey (14) indicates that calcium intake in women under the age of 19 is very low (482 mg/day) in our population. In fact, two previous studies performed by our group show that calcium intake in lactating adolescent mothers was <600 mg/day (895 mg/day during puerperium, falling to 547 mg/day 12 months postpartum) (8,15). Other results suggest that low-calcium diets over a prolonged time may impact negatively on one of the critical periods of bone accretion (16).

In view of the above mentioned evidence, the present study aimed to determine the effect of two forms of calcium supplementation on BMD and bone mineral content (BMC), and to identify predictive factors of bone mass change in adolescent mothers 6 months postpartum.

MATERIALS AND METHODS

An analytical, prospective clinical design was used to assess 37 Caucasian adolescent mothers recruited within 15 days after delivery at the Maternity from the Hospital General de Agudos "José de San Martín", La Plata, Argentina. The city of La Plata is located at 34°

South latitude.

Follow-ups were performed at the Outpatient Ward of IDIP – Instituto de Desarrollo e Investigaciones Pediátricas "Prof. Dr Fernando Viteri", Children's Hospital "Sor Maria Ludovica", La Plata, Argentina.

Women who were healthy, ≤ 19 years, primiparous, with term, singleton pregnancy (newborn birth weight ≥ 2500 g) and under natural or intrauterine dispositive (IUD) contraceptive methods were included in the study. Exclusion criteria were mothers who did not breastfeed exclusively for at least 3 months, the presence of chronic and/or acute diseases, history of rickets and osteomalacia, infectious disease the moment of the study, use of any drug, and unwillingness to participate in the study.

A social worker surveyed adolescent mothers within 15 days after delivery, and invited those who complied with the inclusion criteria to participate in the study. Written informed consent was obtained from each adolescent and a responsible adult. A general clinical examination was done before starting the trial; studies and follow-ups were performed at 15 days (baseline) and 6 months postpartum, respectively. A questionnaire about breastfeeding, resumption of menses and contraceptive methods was also performed by the nutritionist and the clinician.

Adolescents were assigned into one of two groups following a systematic random technique. Group 1 (n=19) was given a biscuit fortified with skimmed milk powder (SanCor®, SanCor CUL, Argentina) and the following ingredients: eggs, wheat flour, sugar and vanilla essence. Port salut cheese (SanCor®) (1/2 kg/week) was also given to complete the supplement. This food provided 2073.28 kJ or 496 kcal, 61.2 g carbohydrates, 34.7 g proteins, 11.4 g fat, 932 mg calcium and 0.32 μg vitamin D. The nutritionist asked adolescents to replace some habitual food in their breakfast or snack to avoid a higher calorie intake. They were also asked not to take mineral or vitamin supplements unless they were provided by the healthcare team. Mothers from this group were surveyed weekly when they collected their food and were all given a calendar to record the monthly intake of fortified biscuits and cheese, marking on each day with a cross whether the biscuit or cheese was consumed; the supplement not ingested was subtracted from the daily average intake.

Group 2 (n=18) received 3 capsules of calcium citrate (Calcimax® and Calcimax Forte®, Laboratorios

Gador, Buenos Aires, Argentina) providing 1000 mg calcium/day. The assigned supplement was given when participants entered the study (15 days postpartum; baseline) up to 6 months postpartum. Data about calcium supplement intake were collected from telephone follow-ups and pill count. Participants received monthly a bottle of pills with the total number of pills they had to take; on the day of follow-up, pills were counted and the remaining ones, if any, were discounted from the daily average intake.

Body weight was electronically measured with a Tanita 1582 digital balance (100 g accuracy) and height was measured with a SECA 222 stadiometer (mm graduation, 1 cm accuracy) at 15 days and 6 months postpartum. Maximum weight during pregnancy was taken from case histories.

The infant's feeding pattern was determined by asking mothers whether they were exclusively breastfeeding, bottle feeding, or both. The food-frequency semi-quantitative method was used to estimate the dietary intake of mothers at baseline (15 days postpartum; it reflects the dietary intake during the last months of pregnancy) and 6 months after the study. The survey included calcium dietary intake plus calcium from each dietary supplements (17). All food groups were included in the survey (dairy products, meat, eggs, fruits, vegetables, cereals, beans, flour and derivatives, drinks, candies, fat, oil, and bread). According to the food ingested, the amount of nutrient consumption per day was calculated, estimating daily intake of energy (kJ/day, kcal/day), proteins (g/day), calcium (mg/day), phosphorus (mg/day), and vitamin D ($\mu\text{g/day}$) with the USDA Food composition data base (18). The questionnaire was designed by a registered nutritionist based on food models to clearly identify serving sizes.

Bone mineral densitometry was assessed by dual-energy-X-ray absorptiometry (DEXA) with a LUNAR DPX-L instrument with pediatric software version 4.6f (GE Lunar Corporation, Madison, WI, USA). The in vivo reproducibility, expressed as percent BMD coefficient of variation, was as follows: lumbar spine (L2-L4), 1.3%; femoral neck (FN), 1.5%; trochanter (TR), 1.4%; total hip (TH), 0.9%; total body BMD, 0.8%. Measurements were performed by a single expert observer. We determined BMC and total body BMD. BMD was measured in all sites and body composition was also estimated by DEXA (19,20). Results were expressed as absolute values (g/cm^2), as percent BMD

changes in all sites studied, and as percent BMC changes from baseline up to 6 months (final BMD/baseline BMD $\times 100$ [percent BMD] and final BMC/baseline BMC $\times 100$ [percent BMC]). In order to detect a mean 3% difference in BMC variation ($\beta = 0.2$; $\alpha = 0.05$), at least 18 patients per group were needed.

Vitamin D supplement was not recommended because geographical location (latitude 34°) and environmental conditions did not advice about its prescription (21, 22).

The study began at the end of winter-start of spring and follow-ups were made in summer-start of autumn. The study protocol was approved by the Institutional Research Protocols Review Board of IDIP.

The statistical analysis was performed with SPSS version 13 (SPSS Inc, Chicago, IL, USA). Comparisons of means between groups were made with Student's t-test for independent samples. Regression models were built to study the relationship of percent BMD and BMC changes (dependent variables) with supplementation group 1 or 2 (dichotomic variable) and months of lactation, weight at 6 months (kg), weight at 6 months (kg)/weight at baseline (kg) $\times 100$, lean mass at 6 months (kg), lean mass at 6 month (kg)/lean mass at baseline (kg) $\times 100$, and total calcium intake (independents variables). The choice of variables was made with backward elimination procedures to obtain the simplest models.

RESULTS

From a total of 37 adolescent mothers, 19 belonged to group 1 (diet supplemented with dairy products) and 18 to group 2 (supplemented with calcium tablets).

The characteristics of the study sample are depicted in Table 1. The parameters studied did not differ significantly between groups at the beginning of the study.

All mothers were exclusively breastfeeding up to 3 months. At 6 months, 15 adolescents in each group continued breastfeeding, while the rest fed their babies with a mixture of bottle feeding and breast milk.

Weight, body mass index (BMI) and percent body fat data (mean and SD) at baseline and 6 months postpartum are presented in Table 2. The analysis of data revealed no significant differences between groups.

Table 3 shows results of the dietary intake survey, namely, energy (kJ/day, Kcal/day), protein (g/day), calcium (mg/day), phosphorus (mg/day) and vitamin D ($\mu\text{g/day}$) intake in both groups at baseline and 6

months postpartum. Energy as well as protein intake were higher in Group 1 ($p = 0.013$ and $=0.001$, respectively). However, both groups complied with recommendations (22-24).

Treatment adherence of adolescent mothers was good (60%); calcium intake (average of the 180 days of intervention) of either form of supplement (dairy products or tablets) was 864 and 839 mg/day in Group 1 and 2, respectively.

Bone densitometry results (absolute value g/cm^2) and percent changes from baseline to follow-up are depicted in Table 4. BMD in L2-L4 did not decrease 6 months postpartum in either group.

Total body BMD, BMD changes at the different sites (TH, FN and TR) and BMC did not differ between groups.

Regression models for percent changes in total body BMD and percent changes in BMC showed that only percent body weight changes and total calcium intake were significant, and would account for the 38% total body BMD and the 40% BMC variance (Table 5).

DISCUSSION

To our knowledge, this study is the first to compare two calcium supplements and their effect on BMD at different sites and on BMC in adolescent mothers ex-

clusively breastfeeding for at least 3 months and followed-up during the first 6 months postpartum. Our data suggest that changes in BMD and BMC 6 months postpartum were similar in both intervention groups, and that percent body weight changes and total calcium intake were significant predictors of bone mass change.

Very few reports in the literature have investigated the impact of calcium supplements in the diet or calcium salts on BMD in lactating adolescent mothers. Chan et al. (11) studied the efficacy of a high calcium diet composed of dairy products on BMD loss in lactating adolescent mo-

TABLE 1
Characteristics of adolescent mothers at the beginning of the study

	Group 1	Group 2
Age at the beginning (y)	16.32 ± 1.38	16.78 ± 1.35
Height (m)	1.555 ± 0.036	1.558 ± 0.051
Age at menarche (y)	11.67 ± 1.19	11.94 ± 0.87
Weight gain during pregnancy (kg)	12.45 ± 6.65	16.15 ± 7.72
Newborn birth weight (kg)	3.098 ± 0.420	3.353 ± 0.404

Group 1, dairy products Group 2, calcium citrate

TABLE 2
Anthropometric parameters at baseline and 6 months postpartum

	Baseline		6 months	
	Group 1	Group 2	Group 1	Group 2
Weight (kg)	58.3 ± 9.9	63.8 ± 13.2	57.4 ± 12.5	61.7 ± 13.3
BMI (kg/m^2)	24.06 ± 3.61	26.22 ± 4.88	23.48 ± 4.70	25.03 ± 5.89
Fat mass (%)	36.9 ± 6.7	39.8 ± 8.0	35.0 ± 10.3	36.3 ± 10.9

BMI, body mass index. Group 1, dairy products Group 2, calcium citrate

TABLE 3
Results of the dietary survey at baseline and 6 months postpartum

	Baseline		6 months	
	Group 1	Group 2	Group 1	Group 2
Energy (kJ/day)	14628 ± 5356	15399 ± 5311	12644 ± 3318	10210 ± 3979*
Energy (Kcal/day)	3500 ± 1281	3684 ± 1270	3025 ± 810	2293 ± 748**
Proteins (g/day)	116 ± 37	121 ± 42	117 ± 29	80 ± 28***
Calcium (mg/day)	1004 ± 496	1223 ± 890	1598 ± 585□	1477 ± 321□
Phosphorus (mg/day)	1186.59 ± 555	1394 ± 628.5	871.47 ± 497.4	774.56 ± 436.1
Vitamin D ($\mu g/day$)	2.05 ± 1.84	2.84 ± 2.39	2.3 ± 2.08	2.13 ± 2.09

* $p = 0.04$, ** $p = 0.013$, *** $p = 0.001$ for differences between groups at 6 months. Group 1, dairy products Group 2, calcium citrate
□Data are means of the sum of the daily average calcium supplement intake and the daily dietary calcium intake.

TABLE 4
BMD at different skeletal sites at baseline and 6 months postpartum

	Baseline		6 months	
	Group 1	Group 2	Group 1	Group 2
L2-L4 (g/cm ²)	1.060 ± 0.085	1.077 ± 0.121	1.069 ± 0.091	1.105 ± 0.137
percent variation*			101.01 ± 6.7	102.7 ± 6.5
FN (g/cm ²)	1.013 ± 0.085	1.046 ± 0.148	0.960 ± 0.112	1.011 ± 0.173
percent variation			94.6 ± 5.56	96.4 ± 6.86
Tr (g/cm ²)	0.765 ± 0.0882	0.790 ± 0.143	0.732 ± 0.091	0.782 ± 0.155
percent variation			95.99 ± 8.89	98.94 ± 7.66
TH (g/cm ²)	0.996 ± 0.0902	1.021 ± 0.146	0.953 ± 0.107	0.998 ± 0.167
percent variation			95.63 ± 5.91	97.62 ± 6.42
Total body BMD (g/cm ²)	1.099 ± 0.0560	1.128 ± 0.087	1.083 ± 0.0634	1.12 ± 0.0965
percent variation			98.55 ± 2.68	99.40 ± 2.17
BMC (g)	2165 ± 220	2305 ± 381	2116 ± 249	2315 ± 437
percent variation			97.4 ± 4.89	100.19 ± 6.83

*Percent variation from baseline to follow-up (final BMD value expressed as percentage of the initial value) L2-L4, lumbar spine FN, femoral neck Tr, Trochanter TH, total hip total-body BMD, total body bone mineral density BMC, bone mineral content
Group 1, dairy products Group 2, calcium citrate

TABLE 5
Regression models of percent total body BMD and Percent BMC

Dependent variable	R ²	Significant independent variable	Coefficient	<i>p</i>
Percent total body BMD	0.38	Percent body weight change	0.0125	0.0014
		Total calcium intake	0.0142	0.0470
Percent BMC	0.40	Percent body weight change	0.2554	0.0088
		Total calcium intake	0.0056	0.0035

Total body BMD, total body bone mineral density BMC, bone mineral content

thers during 4 months. The authors determined BMC by photon absorptiometry of the distal radius, suggesting that bone loss during lactation may be prevented with adequate dietary calcium intakes (>1600 mg Ca/day). However, the current calcium recommendation is lower (1100 mg/day) (24). In our study, supplementation lasted longer (6 month), BMD measurements were performed with another method (densitometry) and in other sites (lumbar spine, total hip, total body), the calcium intake was lower, and two forms of calcium supplementation were compared.

The average dietary intake of calcium at baseline in the current study was slightly higher than that reported in our previous report without supplementation (approximately 1000-1200 mg Ca/day vs 895 mg Ca/day) (8). At 6 months postpartum, there was a marked decrease in calcium intake in both the previous and the present report. Apparently, during pregnancy mothers consume more energy, calcium and other nutrients, but do not receive adequate counseling during

lactation, when dietary habits are similar to those of the general adolescent population.

The current results show that BMD and BMC of adolescents receiving a calcium supplement in their diet or tablets were similar after the 6-month intervention. Total body BMD and BMC had not significant changes in either study group, and results were similar at different hip sites (FN, TR, TH). Whereas some authors (10,11,25) have studied calcium supplementation in adult and adolescent mothers without evaluating BMD at all hip sites, others (10,25) have measured it in forearm and L2-L4, reporting that calcium supplementation does not prevent bone loss during lactation in L2-L4. In our study, BMD in L2-L4 remained unchanged as compared to that observed at baseline. Similar results were also reported in young adult undernourished women from India without supplementation, who did not present significant BMD losses in L2-L4 6 months postpartum (26).

Chan et al. (11) found correlation between percent

BMC changes and calcium intake in lactating adolescent mothers. Our results show that not only percent BMC but also percent total body BMD changes had a linear dependence on calcium intake during the 6-month follow-up.

Concerning changes in anthropometric variables during the 6-month follow-up (weight, BMI and fat mass), they were similar to those published in our previous reports (8,15).

Kulkarni et al. (26) have reported that maternal weight and lean mass in young adult undernourished women from India explained major variations in BMD changes at various skeletal sites. Our findings show that weight rather than lean mass had a significant association with percent total body BMD and percent BMC. Other studies also report such association in adult pregnant women (27,28) and breastfeeding adolescents (8). Evidently, body weight and its lean and fat body mass components are three factors that play a role on bone health.

BMD and BMC variations not only depend on hereditary, racial and hormonal factors, but also on the intake of calcium and other nutrients, the practice of physical activity and the reproductive history (29). During the first two decades of life, during pregnancy and lactation, and particularly during adolescence, calcium intake requirements are high. However, our population can hardly meet calcium recommendations during such a critical period. Further, compliance with the calcium- or tablet-supplemented diet was the result of a sustained and persistent intervention by the participating healthcare team.

Other variables such as duration of exclusive maternal breastfeeding and resumption of menses were not evaluated in this study because most adolescents continued breastfeeding until the end of the intervention and none had resumed menses; thus, their effect on BMD changes could not be assessed.

Results of the regression analysis showed that belonging to either supplementation group was not significant. Therefore, covering the recommended dietary intake (1100 mg) is mostly important, regardless of the source of calcium supply. Probably, an adequate and sustained calcium intake could be reached through a mixed intervention and nutritional advice, without exceeding the recommended upper limits (24).

One of the weaknesses of our study is the absence of a control group. However, the lack of intervention

would have been ethically controversial, due to our previous study in adolescent mothers without intervention who evinced bone mineral loss (8). Nevertheless, we believe that a controlled trial would be necessary.

Although both study groups were advised to go on their habitual diet and the only advice was to replace bread or biscuits by the calcium fortified biscuit provided by our team, participants from group 1 spontaneously consumed more energy than those from group 2.

In previous studies in adult and adolescent mothers, either calcium salts or a higher calcium intake through dairy products have been used for calcium supplementation (9-11). However, one of our main objectives was to compare the results obtained with both forms of supplementation, expecting better results with dairy product since it has been reported that not only calcium and vitamin D but also proteins favor bone health (30). Nevertheless, our data showed similar results with either form of supplementation.

CONCLUSION

Our data suggest that there were no significant changes in BMD and BMC 6 months postpartum in none of the intervention groups, but percent body weight changes and total calcium intake were significant predictors of bone mass change.

ACKNOWLEDGEMENTS

This study was supported by a grant from Salud Investiga (National Ministry of Health of Argentina). Thanks are due to SanCor CUL and Laboratorios Gador for the provision of calcium supplements. The authors are grateful to the women who volunteered to take part in the study. Thanks are also due to Adriana Di Maggio for manuscript editing.

REFERENCES

1. Sowers MF, Corton G, Shapiro B. Changes in bone density with lactation. *JAMA*. 1993;269:3130-5.
2. Polatti F, Capuzzo E, Viazo F, Colleoni R, Klersy C. Bone mineral changes during and after lactation. *Obstet Gynecol*. 1999;94:52-6.
3. Affinito P, Tommaselli GA, Di Carlo C, Guida F, Nappi C. Changes in bone mineral density and calcium metabolism in breastfeeding women: a one year follow up study. *J Clin Endocrinol Metab*. 1996;81:2314-8.
4. Laskey MA, Prentice A. Bone mineral changes during and after lactation. *Obstet Gynecol*. 1999;94:608-15.
5. Kalkwarf HJ, Specker BL. Bone mineral loss during

- lactation and recovery after weaning. *Obstet Gynecol.* 1995;86:26-32.
6. Cross NA, Hillman LS, Allen SH, Krause GF, Vieira NE. Calcium homeostasis and bone metabolism during pregnancy, lactation and postweaning: a longitudinal study. *Am J Clin Nutr.* 1995;61:514-23.
 7. Bezerra FF, Mendonça LMC, Lobato EC, O'Brien KO, Donangelo CM. Bone mass is recovered from lactation to postweaning in adolescent mothers with low calcium intakes. *Am J Clin Nutr.* 2004;80:1322-6.
 8. Malpeli A, Mansur JL, De Santiago S, Villalobos R, Armanini A, Apezteguía M, et al. Changes in bone mineral density of adolescent mothers during the 12-month postpartum period. *Public Health Nutr.* 2009;13:1522-7.
 9. Prentice A, Jarjou L, Cole TJ, Stirling DM, Dibba B, Fairweather-Tait S. Calcium requirements of lactating Gambian mothers: effects of a calcium supplement on breast milk calcium concentration, maternal bone content and urinary calcium excretion. *Am J Clin Nutr.* 1995;62:58-67.
 10. Kalwarf HJ, Specker BL, Bianchi DC, Ranz J, Ho M. The effect of calcium supplementation on bone density during lactation and after weaning. *N Engl J Med.* 1997;337:523-8.
 11. Chan G, McMurry M, Westover K, Engelbert-Fenton K, Thomas MR. Effects of increased dietary calcium intake upon the calcium and bone mineral status of lactating adolescents and adult women. *Am J Clin Nutr.* 1987;46:319-23.
 12. Abrams SA. Bone turnover during lactation. Can calcium supplementation make a difference? *J Clin Endocrinol Metab.* 1998;83:1056-8.
 13. Dirección de Estadísticas e Información en Salud. Estadísticas Vitales: Información Básica 2009. Ministerio de Salud y Ambiente de la Nación. Serie 5. N° 53. Buenos Aires; 2009.
 14. Ministerio de Salud, Presidencia de la Nación. Encuesta Nacional de Nutrición y Salud (ENNyS). Documento de Resultados. 2007. <http://www.msal.gov.ar/htm/site/ennys/pdf>
 15. Gonzalez HF, Malpeli A, Mansur JL, De Santiago S, Etchegoyen GS. Changes in body composition in lactating adolescent mothers. *ALAN.* 2005;55:252-6.
 16. Gong E, Heald F. Diet, nutrition and adolescence. In: Shils M, Olson J, Shike M, editors. *Modern Nutrition in Health and Disease*, 8th edn. Philadelphia, PA: Lea & Febiger; 1994. vol. 1, p. 759-767.
 17. Hankin JH. Dietary intake methodology. In: Mosen ER, editor. *Research: Successful Approaches*. Chicago: The American Dietetic Association; 1992. P. 173-194
 18. USDA Food and Nutrient Database for Dietary Studies, 1.0. Beltsville, MD: Agricultural Research Service, Food Surveys Research Group; 2004.
 19. Brunton JA, Bayley HS, Atkinson SA. Validation and application of dual-energy x-ray absorptiometry to measure bone mass and body composition in small infants. *Am J Clin Nutr.* 1993;58:839-45.
 20. Mazzes RB, Barden HS, Bisek JP, Hanson J. Dual-energy x-ray absorptiometry for total-body and regional bone mineral and soft-tissue composition. *Am J Clin Nutr.* 1990; 5:589-95.
 21. Holick MF. Environmental factors that influence the cutaneous production of vitamin D. *Am J Clin Nutr.* 1995;61(Suppl):638S-45S.
 22. Institute of Medicine Dietary Reference Intakes for Calcium, Phosphorus, Magnesium, Vitamin D, and Fluoride Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes Food and Nutrition Board, Institute of Medicine. Washington, DC: National Academy Press; 1997.
 23. Institute of Medicine Dietary Reference Intakes for Energy, Carbohydrate, Fiber, Fat, Fatty Acids, Cholesterol, Protein, and Amino Acids (Macronutrients) Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes Food and Nutrition Board, Institute of Medicine. Washington, DC: National Academy Press; 2005.
 24. Institute of Medicine Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D Committee to Review Dietary Reference Intakes for Vitamin D and Calcium; Institute of Medicine; 2010.
 25. Cross NA, Hillman LS, Allen SH, Krause GF. Changes in bone mineral density and markers of bone remodeling during lactation to postweaning in women consuming high amounts of calcium. *J Bone Miner Res.* 1995;10:1312-20.
 26. Kulkarni B, Shatrugna V, Nagalla B, Ajeya Kumar P, Usha Rani K, Chandrakala Omkar A. Maternal weight and lean body mass may influence the lactation-related bone changes in young undernourished Indian women. *Br J Nutr.* 2009;101:1527-33.
 27. Olausson H, Laskey MA, Goldberg GR, Prentice A. Changes in bone mineral status and bone size during pregnancy and the influences of body weight and calcium intakes. *Am J Clin Nutr.* 2008; 88:1032-9.
 28. Promislow JH, Hertz-Piccioto I, Schramm M, Watt-Morse M, Anderson JJ. Bed rest and other determinants of bone loss during pregnancy. *Am J Obstet Gynecol.* 2004;191:1077-83.
 29. Mazzes RB, Barden HS. Bone density in premenopausal women: effects of age, dietary intakes, physical activity, smoking and control pills. *Am J Clin Nutr.* 1991;53:132-42.
 30. Bonjour JP. Dietary Protein: An essential nutrient for bone health. *J Am Coll Nutr.* 2005; 24(6 Suppl):526S-36S.

Recibido: 06-01-2012

Aceptado: 20-04-2012

Freeze-dried jaboticaba peel powder rich in anthocyanins did not reduce weight gain and lipid content in mice and rats

Anne Y. Castro Marques, Nathalia Romanelli Dragano, Sabrina Alves Lenquiste, Ângela Giovana Batista, Carina Carlucci Palazzo, Mário Roberto Maróstica Jr.

Department of Food and Nutrition, Faculty of Food Engineering,
University of Campinas, Campinas, São Paulo State, Brazil

SUMMARY. Jaboticaba, a native fruit from Brazilian Atlantic Forest, is an important source of anthocyanins. Anthocyanins have been recently identified as modulators of lipid metabolism and energy expenditure 'in vivo'. The purpose of this study was to evaluate the effect of the freeze-dried jaboticaba peel powder on obesity treatment in different experimental models. Obese Swiss mice and obese Sprague-Dawley rats were fed a high-fat diet supplemented with 1, 2 and 4% freeze-dried jaboticaba peel powder for 6 weeks. Energy intake, weight gain and body composition were determined, and the results were analyzed using variance and Tukey's tests ($p < 0.05$). The energy intake was higher in mice groups supplemented with 2% and 4% of jaboticaba peel. In relation to weight gain, the mice supplemented with 2% of jaboticaba peel had higher total weight gain than the other experimental groups, while no significant difference in the fat mass accumulation was observed among the groups. The rats did not show significant differences in the evaluated parameters. These results suggest that the supplementation with freeze-dried jaboticaba peel powder, at concentrations of 1, 2 and 4%, was not effective in the reduction of energy intake, weight gain and body fat both in mice and in rats.

Key words: Jaboticaba, anthocyanins, obesity, mice, rats.

RESUMEN: La cáscara de jaboticaba liofilizada, una rica fuente de antocianinas, no influyó en la ganancia de peso ni en el contenido de lípidos en roedores. La jaboticaba, una fruta nativa de la Selva Atlántica de Brasil, es una fuente importante de antocianinas. Las antocianinas han sido recientemente identificadas como moduladoras del metabolismo de lípidos y del gasto energético en vivo. Este estudio tuvo como objetivo evaluar el uso de la cáscara de jaboticaba liofilizada en polvo en el tratamiento de la obesidad, en distintos modelos experimentales. Ratones Swiss y ratas Sprague-Dawley obesos, recibieron dietas con alto contenido de grasas, a las que se añadió 1, 2 y 4% de cáscara de jaboticaba en polvo, durante 6 semanas. Se determinó el consumo de energía, el aumento de peso y la composición corporal de los animales, y los resultados fueron sometidos a análisis de varianza y prueba de Tukey, con $p < 0,05$. El consumo de energía fue superior en los grupos de ratones Swiss de los grupos con 2% y 4% de cáscara de jaboticaba. En el aumento del peso, los ratones Swiss del grupo con 2% de piel de jaboticaba aumentaron más en peso total comparados a los otros grupos experimentales; mientras que no se observaron diferencias significativas entre los grupos respecto a la composición de la masa grasa. Entre los grupos de ratas Sprague-Dawley no se dieron diferencias significativas en ninguno de los parámetros evaluados. Por lo tanto, se concluye que la adición de 1, 2 y 4% de cáscara de jaboticaba liofilizada, a la dieta, no fue eficaz para el tratamiento de la obesidad, tanto en ratones Swiss como en ratas Sprague-Dawley.

Palabras clave: Jaboticaba, antocianinas, obesidad, ratones.

INTRODUCTION

The increasing prevalence of obese individuals on all continents has had obesity considered as a global epidemic (1). Obesity is characterized by excessive body fat accumulation, which can result in breathing and motor difficulties, dyslipidemias, diabetes mellitus, cardiovascular diseases and some kinds of cancer (2).

In this context, some investigations have shown that functional foods can be active against some obesity effects. Several studies have indicated that bioactive

components in food could play a role on the control of energy balance and promotion of weight loss (1). Anthocyanins, phenolic compounds belonging to the flavonoid family, responsible for the red, blue, violet and pink colors from fruits, vegetables and flowers, are among potential allies in the fight against obesity (3). Anthocyanins are known for their antioxidant properties, inhibitory action of several tumors, and possible protective effects in cardiovascular diseases (4). Recently, anthocyanins have been identified as modulators of lipid metabolism and energy expenditure,

reducing fat mass in rats and acting positively in the lipid profile (5).

The consumption of fruits like blueberry, raspberry, strawberry and blackcurrant, rich in anthocyanins, has been associated with reduced body weight and appetite in animal studies. Kim et al. (1) proved that anthocyanins, independently from the fiber content of the fruits can be active against obesity; they found that the consumption of blueberry soluble extract reduced some obesity parameters in animal models. Jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*), a native fruit from the Brazilian Atlantic Forest, has a peel with high concentrations of anthocyanins. This Brazilian fruit is used in jams, liqueurs and vinegars, but its use in food industry is not fully exploited (6). Several authors state that jaboticaba could be considered a Brazilian berry, given that its anthocyanins composition is similar to other berries, more specifically, the blackberry, in which delphinidin-3-glucoside and cyanidin-3-glucoside were identified (7).

Although anthocyanins rich fruits and/or purified anthocyanins are associated with reduced obesity, studies that correlate jaboticaba consumption and weight control are scarce. Therefore, this study aimed to investigate the possible role of jaboticaba anthocyanins on the treatment of obesity. In this way, energy intake, weight gain and body composition of mice and rats fed high-fat diet supplemented with freeze-dried jaboticaba peel powder in different concentrations were tested.

MATERIALS AND METHODS

Preparation of freeze-dried jaboticaba peels.

The jaboticaba fruits (*Myrciaria jaboticaba* Vell berg) were obtained directly from producer (Aguai, São Paulo State, Brazil), during the main harvest season in September 2008. The fruits were manually washed with fresh water and the peels were separated and frozen at -20 °C. The frozen peels were lyophilized and grounded into a fine powder by an electrical Mill. The freeze-dried powder was kept in airtight containers and stored at -80 °C.

Determination of anthocyanins and chemical composition in freeze-dried jaboticaba peel. The anthocyanins extraction of freeze-dried jaboticaba peel was performed according to Wu (8), with subsequent determination in liquid chromatography equipped with a diode array detector and a C18 column. Total and in-

dividual anthocyanins identification and quantification were performed according to Favaro (9), with slight modifications. The identification of compounds was performed by retention time analysis, in comparison with anthocyanins standards. The concentrations were determined according to a calibration curve constructed from anthocyanins standards.

Analyses of moisture, total protein and ash were performed according to methods described by the Association of Official Analytical Chemists (AOAC) (10). Total lipids were determined by Bligh; Dyer (11), and the determination of soluble and insoluble fiber was carried out according to ASP et al. (12). The carbohydrate concentration in the freeze-dried jaboticaba peel was obtained by difference.

Experimental diets. Five different diets were prepared: standard AIN-93G diet (13), with protein concentration of 12% (14) (*C diet*); modified AIN-93G high-fat diet, with 12% of protein and 35% (wt/wt) of lipids (*HF diet*); and three high-fat diet supplemented with freeze-dried jaboticaba peel powder, in concentrations of 1, 2 and 4% (wt/wt) (*HFJ1*, *HFJ2* and *HFJ4 diets*). The concentrations of freeze-dried powder in the diets were determined according to a preliminary study conducted by our research group (15). The high-fat diets were prepared with less amount of carbohydrates (starch, maltodextrin and sucrose), due to the lard addition. In diets supplemented with freeze-dried jaboticaba peel powder, the added cellulose was reduced, as the fruit peel is a good source of dietary fiber.

The chemical composition of experimental diets was determined by moisture, ash, protein (10) and total lipids analysis (11). Carbohydrates concentration was obtained by difference, and energy content was determined using isoperibol automatic calorimeter (PARR 1261) with oxygen pump (PARR 1108). The formulation and the chemical composition of diets are presented in Tables 1 and 2.

Despite the different formulation of high-fat diets (HF, HFJ1, HFJ2 and HFJ4), these were similar in fat content and differed only from the AIN93-G control diet, which did not receive lard. Significant differences also occurred among the moisture and ash values in HFJ1, HFJ2 and HFJ4 diets. These differences are consequence of jaboticaba peel powder supplementation, which has important minerals and moisture concentration. Moreover, it was observed that the carbohydrates concentration differs among the expe-

TABLE 1
Composition of experimental diets.

Ingredients (g/kg of diet)*	C	HF	HFJ1	HFJ2	HFJ4
Casein	153.8	153.8	153.8	153.8	153.8
Soybean oil	70.0	40.0	40.0	40.0	40.0
Lard	-	310.0	310.0	310.0	310.0
Corn starch	426.6	249.8	249.8	249.8	249.8
Maltodextrin	141.7	82.9	82.9	82.9	82.9
Sucrose	107.3	62.9	62.9	62.9	62.9
Cellulose	50.0	50.0	47.5	45.0	40.0
Mineral mixture	35.0	35.0	35.0	35.0	35.0
Vitamin mixture	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0
L-cystine	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0
Choline bitartrate	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
Terc-Butilhidroquinone	0.014	0.014	0.014	0.014	0.014
Jaboticaba peel powder	-	-	10.0	20.0	40.0
<i>Total</i>	<i>1000.0</i>	<i>1000.0</i>	<i>1000.0</i>	<i>1000.0</i>	<i>1000.0</i>
Anthocianins (mg/kg of diet)					
Cyanidin-3-O-glucoside	-	-	196.4	392.8	785.6
Delphinidin-3-O-glucoside	-	-	63.5	127.0	254.0
<i>Total</i>	-	-	<i>259.9</i>	<i>519.8</i>	<i>1039.6</i>

*Ingredients expressed in g/kg of diet. C: control diet, HF: high-fat diet HFJ1: high-fat diet supplemented with 1% of jaboticaba peel powder HFJ2: high-fat diet supplemented with 2% of jaboticaba peel powder HFJ4: high-fat diet supplemented with 4% of jaboticaba peel powder.

TABLE 2
Chemical composition of experimental diets.

Composition (g%)	C	HF	HFJ1	HFJ2	HFJ4
Moisture	10.55 ± 0.50 ^b	9.57 ± 0.30 ^b	16.66 ± 1.11 ^a	17.70 ± 0.21 ^a	16.91 ± 1.05 ^a
Protein	12.56 ± 0.22 ^a	12.62 ± 0.14 ^a	12.43 ± 0.15 ^a	13.14 ± 0.71 ^a	12.83 ± 0.26 ^a
Lipids	6.87 ± 0.17 ^b	32.80 ± 0.93 ^a	33.64 ± 0.08 ^a	32.60 ± 0.60 ^a	33.03 ± 0.16 ^a
Ash	2.31 ± 0.09 ^b	2.43 ± 0.06 ^b	3.12 ± 0.01 ^a	3.27 ± 0.04 ^a	3.23 ± 0.09 ^a
Carbohydrates	67.71	42.58	34.15	33.29	34.00
Energy density #	4.25 ± 13.92 ^b	5.83 ± 33.82 ^a	5.81 ± 22.85 ^a	5.77 ± 23.61 ^a	5.78 ± 12.19 ^a

C: control diet, HF: high-fat diet HFJ1: high-fat diet supplemented with 1% of jaboticaba peel powder HFJ2: high-fat diet supplemented with 2% of jaboticaba peel powder HFJ4: high-fat diet supplemented with 4% of jaboticaba peel powder. Results are expressed as average ± standard deviation. #Value in kcal/g of diet, obtained by calorimetry. The high-fat diets have similar proteins, lipids and energy concentration. Values with different letters on the same row show statistical difference (p < 0.05).

perimental groups; this fact is explained by partial replacement of carbohydrates by lard in high-fat diets.

In relation to energy density (Table 2), there was significant difference between the control diet and high-fat diets, but the high-fat diets with and without freeze-dried jaboticaba peel powder supplementation were isoenergetic.

Animals. The animals used in this study were from University of Campinas Breeding Center. The investigation was approved by Ethics Committee for Ani-

mal (Permission 2020-1/2010 and 2226-1/2010) and followed the University guidelines for the use of animals in experimental studies. The animals were maintained at 22±1°C, on a 12 hours artificial light/dark cycle, and housed in individual cages.

Swiss male mice were used in Experiment 1, and Sprague-Dawley males in the Experiment 2. In both tests the newly weaned animals were randomly divided into five groups (n = 8), with 7 days of acclimatization and 10 weeks of experiment. C and HF groups received

respective diets throughout the experimental period, while HFJ1, HFJ2 and HFJ4 groups received high-fat diet during four weeks and high-fat diet supplemented with jaboticaba peel powder during the last 6 weeks.

Biological analysis. The diet intake and the body weight gain were checked every two days and once a week, respectively. Food was changed twice a week, or whenever necessary, to minimize lipid oxidation and anthocyanins deterioration.

The body composition was determined according to Park et al. (16), by removing the intestinal contents to obtain the empty carcass. Later, the carcass was frozen, sliced, freeze-dried, crushed and stored at -80°C until the determinations of moisture, total ash, protein (10) and total fat (11).

Statistical analysis. Data analysis was performed using the Statistical Analysis System (SAS) 9.1.3 program. On-way Analysis of Variance (ANOVA) and Tukey's test ($p < 0.05$) were used in order to compare the average of the results.

RESULTS

Determination of anthocyanins and chemical composition in freeze-dried jaboticaba peel. The delphinidin-3-glucoside and the cyanidin-3-glucoside anthocyanins were identified in freeze-dried jaboticaba peel by chromatographic analysis. Cyanidin-3-glucoside was found to be the predominant anthocyanin in the product, representing 75.6% of total anthocyanins. The chemical composition of freeze-dried jaboticaba peel powder used as supplement in experimental diets is presented in Table 3.

TABLE 3
Chemical composition and energy content of freeze-dried jaboticaba peel powder.

Composition*	Average \pm SD*
Moisture	15.33 \pm 0.19 %
Protein**	4.89 \pm 0.10 %
Lipids	1.72 \pm 0.02 %
Ash	3.52 \pm 0.02 %
Insoluble fiber	20.00 \pm 2.00 %
Soluble fiber	5.00 \pm 0.50 %
Carbohydrates	49.46 %
Energy content	2.32 kcal/g

*Analysis of the composition of the jaboticaba peel: moisture, protein, lipid and ash were performed in triplicate and the results are expressed as average \pm standard deviation. ** N x 6.25.

Energy intake and weight gain. Daily average energy intake (kcal/animal/day) for mice (a) and rats (b) during 10 weeks of experiments are shown in Figure 1.

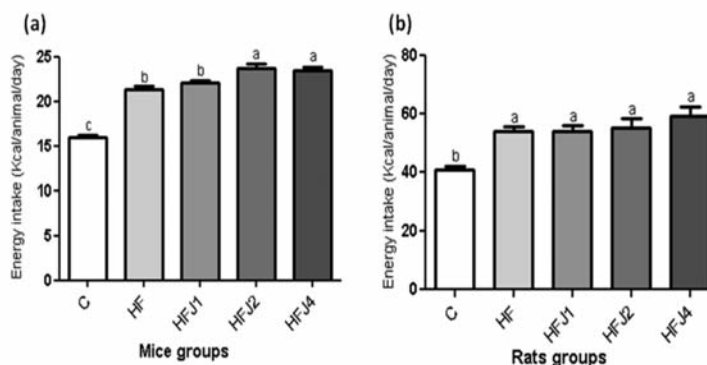


FIGURE 1

Daily average energy intake (kcal/animal/day) for mice (a) and rats (b) during 10 weeks of experiments. C: control diet, HF: high-fat diet; HFJ1: high-fat diet supplemented with 1% of jaboticaba peel powder; HFJ2: high-fat diet supplemented with 2% of jaboticaba peel powder; HFJ4: high-fat diet supplemented with 4% of jaboticaba peel powder. The bars represent average \pm SE. Different letters means that the values are statistically different ($p > 0.05$).

Mice fed with 2% and 4% of jaboticaba peel on the diet showed higher daily energy intake than HF group. Rats fed with 4% of jaboticaba peel also showed higher daily energy intake than HF group, but without statistical difference.

Some changes in feeding patterns were observed in the experiment with mice (Figure 1a). The daily energy intake was statistically higher in groups fed with high-fat diets compared to lean control group. In addition, animals fed with 2% and 4% of jaboticaba peel on the diet showed higher daily energy intake than HF group. In contrast, this pattern was not repeated in the experiment with the rats: the groups fed with high-fat diets, with and without freeze-dried jaboticaba peel powder, did not show different energy intakes (Figure 1b).

The cumulative weight gain values in both animal models, throughout the 10 experimental weeks are displayed in Figure 2.

As expected, in both experiments, the animals that ate the high-fat diets showed greater cumulative weight gain compared to the groups that received control diets. Supplementing the high-fat diets with 1%, 2% and 4% of jaboticaba peel powder did not protect obese mice and rats of additional weight gain. Instead, in the experiment with Swiss mice (Figure 2a), the HFJ2 group showed significantly greater total weight

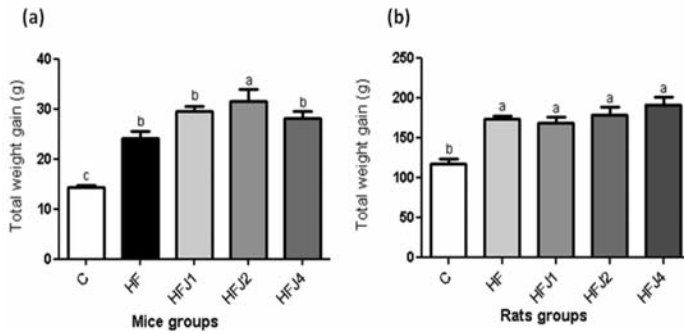


FIGURE 2

Total weight gain of mice (a) and rats (b) after 10 weeks of experiments. C: control diet, HF: high-fat diet; HFJ1: high-fat diet supplemented with 1% of jaboticaba peel powder; HFJ2: high-fat diet supplemented with 2% of jaboticaba peel powder; HFJ4: high-fat diet supplemented with 4% of jaboticaba peel powder. The bars represent average ± SE. Different letters represent statistical difference ($p > 0.05$). The high-fat diets supplemented with jaboticaba peel powder did not reduce total weight gain in different animal models.

gain than other groups fed with diets rich in saturated fatty acids. Similar results were obtained in the experiment with Sprague-Dawley rats (Figure 2b) for the HFJ4 group, without statistical significant difference, however. Thus, the higher energy intake was found to be closely associated with the highest cumulative weight gain in these treatments.

Body composition. The body compositions of mice fed with different diets after 10 experimental weeks are shown in Table 4.

TABLE 4
Body composition of mice and rats fed with different diets after 10 experimental weeks*.

Composition (%)	C	HF	HFJ1	HFJ2	HFJ4
Mice					
Protein**	35.4 ± 5.0 ^a	28.0 ± 2.5 ^b	29.7 ± 3.3 ^{ab}	27.4 ± 2.2 ^b	29.4 ± 4.5 ^{ab}
Lipids	47.7 ± 5.6 ^b	61.5 ± 2.9 ^a	63.6 ± 3.4 ^a	62.3 ± 1.7 ^a	57.5 ± 4.0 ^a
Moisture	1.6 ± 0.6 ^a	0.7 ± 0.2 ^c	1.0 ± 0.2 ^{ac}	1.4 ± 0.3 ^b	1.4 ± 0.4 ^{ab}
Ash	8.2 ± 0.9 ^a	4.7 ± 0.2 ^b	5.1 ± 0.8 ^b	5.2 ± 0.9 ^b	4.8 ± 0.7 ^b
Rats					
Protein**	60.4 ± 4.0 ^a	58.9 ± 3.3 ^a	60.0 ± 3.6 ^a	57.5 ± 2.3 ^a	60.2 ± 3.6 ^a
Lipids	25.4 ± 4.5 ^a	28.7 ± 4.0 ^a	26.9 ± 5.4 ^a	29.2 ± 2.7 ^a	28.0 ± 3.1 ^a
Moisture	5.4 ± 1.3 ^a	4.6 ± 0.4 ^a	5.3 ± 1.0 ^a	4.9 ± 0.3 ^a	4.6 ± 0.3 ^a
Ash	12.8 ± 1.3 ^a	10.8 ± 1.2 ^b	11.0 ± 0.5 ^b	11.2 ± 1.7 ^b	10.7 ± 0.5 ^b

*Dry weight value, after carcass freeze-drying. **Conversion factor used to protein: N = 6.25. C: control diet, HF: high-fat diet HFJ1: high-fat diet supplemented with 1% of jaboticaba peel powder HFJ2: high-fat diet supplemented with 2% of jaboticaba peel powder HFJ4: high-fat diet supplemented with 4% of jaboticaba peel powder. Results are expressed as average ± SD. Values with different letters on the same row show statistical difference ($p < 0.05$). The high-fat diets supplemented with jaboticaba did not significantly alter body composition of mice and rats.

Groups HF and HF2 showed statistically lower content of proteins in carcasses compared to group C (control). Furthermore, there was no change in lean mass content among the HF group and the groups supplemented with freeze-dried jaboticaba peel powder (HFJ1, HFJ2 and HFJ4).

Groups HF, HFJ1, HFJ2 and HFJ4 showed statistically higher contents of lipids in the carcass compared to control. On one hand, these data proved that the higher weight gain observed in all high-fat groups was proportional to the largest fat mass accumulation. On the other hand, despite the rats from HFJ2 showed greater weight gain they did not accumulated more fat mass compared to the other high-fat groups.

Significant differences on moisture contents were observed among mice groups, with values varying between 0.7% and 1.6%. The carcasses were freeze-dried before analysis, which explains the very low moisture contents.

Finally, the ash content was largely different among the group C and the other (HF, HFJ1, HFJ2 and HFJ4). Despite the higher mineral concentration in diets supplemented with jaboticaba peel, there was a significant reduction in the ash concentration in carcasses of the animals from all high-fat groups.

The amounts of protein, fat, moisture and ash, corresponding to body composition of Sprague-Dawley rats at the end of the experiment are also presented in

Table 4. Protein and fat contents were not statistically different among the groups, regardless the clear differences on the diet offered to each group. Nevertheless, the animals that received high-fat diets (with and without jaboticaba peel powder) presented lower ash contents.

DISCUSSION

The chromatographic profile of the sample is in accordance to Terci (17); however, this Brazilian study also identified the presence of peonidin-3-glucoside in the jaboticaba peel. Reynertson et al. (18) identified the presence of cyanidin-3-glucoside and peonidin-3-glucoside in jaboticaba. Unfortunately, authors mentio-

ned above did not describe the variety of jaboticaba used in their studies, which may be decisive for the composition of anthocyanins.

The jaboticaba peel is composed mainly of carbohydrates (including soluble and insoluble fiber) and water. Probably, the high content of carbohydrate found reflects the large amount of simple and structural sugars, which in general are the major constituents of fruit peels (19).

Several studies have evaluated the effects of anthocyanins rich fruits and/or anthocyanins purified on the development of obesity. The results presented in most of these studies are not consistent with the data found in this work, both in terms of energy intake and weight gain. Tsuda et al (20) showed that mice submitted to high-fat diet (HFD) supplemented with 2% cyanidin-3-glucoside from purple corn, although presented no difference in energy intake, and had lower weight gain compared to the HFD.

Recently, Prior et al. (21) supplemented high-fat diet offered to mice with freeze-dried blueberries, freeze-dried strawberries or purified cyanidin-3-glucoside. Animals fed with purified cyanidin-3-glucoside showed a reduction in weight gain, while those fed freeze-dried fruits at a concentration of 10% had higher weight gain. In a similar study, DeFuria et al. (22) fed mice with high-fat diet plus 4% freeze-dried blueberry, and the animals did not show changes in energy intake and weight gain compared to the control group.

The freeze-dried jaboticaba peel powder addition clearly changed sensory characteristics (color and flavor) of the diets. The animal preference for diets added with jaboticaba peel powder was evident: the animals were previously fed with HF diet for 4 weeks, and after the diet was changed by the jaboticaba peel supplemented diets (data not shown). The animals of all the groups that received diets added with jaboticaba powder HFJ1, HFJ2 and HFJ4 showed higher intakes of feed. The improved palatability of jaboticaba diets may have increased energy intake and, consequently, it caused the higher weight gain in these groups.

Although the animals' bone masses have not been assessed, the lower ash content in high-fat groups may indicate a reduction on bone mineralization. Both adipocytes and osteoblasts originate from mesenchymal stem cells; with increased formation of adipocytes caused by supplementation with lard, cell differentia-

tion in osteoblast may have been lower and, consequently, bone formation was reduced (23).

Based on the body composition results shown, it can be concluded that supplementation of diet with freeze-dried jaboticaba peel powder did not modulate lipid metabolism and did not reduce fat mass in the different experimental models. Prior et al. (24) analyzed, by magnetic resonance imaging, the body composition of mice fed with high-fat diet and low-fat diet (LF), both supplemented with blueberries (juice and freeze-dried fruit) and purified anthocyanins. The authors found that animals fed with high-fat diet had higher fat mass (%) and lower lean mass (%) compared to those given low-fat diet. These results are consistent with the ones reported in our study, indicating that supplementation with berries rich in anthocyanins and even with purified anthocyanins did not change body composition. However, it is noteworthy that the time of the experiment may have negatively influenced body composition. Perhaps longer treatments with freeze-dried jaboticaba peel powder should result in significant changes in body composition.

It is suggested that the purified anthocyanins have positive effects on reducing obesity and metabolic changes resulting from this disease, as previous studies have showed lower effectiveness of the fruits source of anthocyanins compared to the use of the purified compound. In an attempt to explain the lower efficiency of fruit in reducing obesity, it is suspected that there may be some compound in the fresh fruit that slows the anthocyanins absorption, reducing its bioavailability and, consequently, the effectiveness of its action (25).

CONCLUSION

Freeze-dried jaboticaba peel powder in different concentrations was not effective in the prevention of body weight gain and lipid contents on the carcasses of mice and rats as experimental models. Divergences found respect to other studies can be attributed to the concentration of jaboticaba peel added to the diets and the use of jaboticaba peel as an anthocyanin source instead of purified anthocyanins. Thus, further experiments are needed in order to obtain more evidences about the role of anthocyanins on obesity treatment.

ACKNOWLEDGMENT

This work was supported by Fundação de Amparo

à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) and Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

REFERENCES

- Kim KH, Park Y. Food components with ant-obesity effect. *Annual Review of Food Science and Technology*. 2011; 2: 237-57.
- Pinheiro ARO, Freitas SFT, Corso ACT. Uma abordagem epidemiológica da obesidade. *Revista de Nutrição*. 2004; 17: 523-33.
- Brito ES, Araújo MCP, Alves RE, Carkeet C, Clevidence BA, Novotny JA. Anthocyanins present in selected tropical fruits: acerola, jambolão, jussara, and guajiru. *J Agric Food Chem*. 2007; 55: 9389-94.
- Hollman PCH, Katan MB. Dietary flavonoids: intake, health effects and bioavailability. *Food Chem Toxicol*. 1999; 37: 937-42.
- Kwon S, Ahn I, Kim S, Kong C, Chung H, Do M et al. PARK. Anti-obesity and hypolipidemic effects of black soybean anthocyanins. *Journal of Medicinal Food*. 2007; 10: 552-56.
- Silva GJF, Constant PBL, Figueiredo RW, Moura SM. Formulação e estabilidade de corantes de antocianinas extraídas das cascas de jaboticaba (*Myrciaria ssp*), *Alim Nutr*. 2010; 21: 429-36.
- Dugo P, Mondello L, Errante G, Zappia G, Dugo G. Identification of anthocyanins in berries by narrow-bore high-performance liquid chromatography with electrospray ionization detection. *J Agric Food Chem*. 2001; 49: 3987-92.
- Wu X, Gu L, Prior RL, McKay S. Characterization of anthocyanins and proanthocyanidins in some cultivars of ribes, aronia, and sambucus and their antioxidant capacity. *J Agric Food Chem*. 2004; 52: 7846-56.
- Favaro MMA. Extração, estabilidade e quantificação de antocianinas de frutas típicas brasileiras para aplicação industrial como corantes [dissertation]. Instituto de Química: Universidade Estadual de Campinas; 2008.
- Association of Official Analytical Chemists. *Official methods of analysis of AOAC*. 16. ed. Virginia: AOAC International; 1995.
- Bligh EG, Dyer WJ. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*. 1959; 37: 911-17.
- Asp NG, Johansson CG, Hallmer H, Siljeström M. Rapid enzymatic assay of insoluble and soluble dietary fiber / Rápidos ensayos enzimáticos de fibra dietética soluble e insoluble. *J Agric Food Chem*. 1983; 31: 476-82.
- Reeves PG, Nielsen FH, Fahey Jr 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: 1939-51.
- Goena M, Marzo F, Fernández-González L, Tosar A, Frühbeck G, Santidrián S. Effect of the raw legume *Vicia ervilha* on muscle and liver protein metabolism in growing rats. *Rev Esp Fisiol*. 1989; 45: 55-60.
- Leite AV, Malta LG, Riccio MF, Eberlin MN, Pastore GM, Maróstica Júnior MR. Antioxidant potential of rat plasma by administration of freeze-dried jaboticaba peel (*Myrciaria jaboticaba* Vell Berg). *J Agric Food Chem*. 2011; 59: 2277-83.
- Park Y, Albright KJ, Liu W, Storkson JM, Cook ME, Pariza MW. Effect of conjugated linoleic acid on body composition in mice. *Lipids*. 1997; 32: 853-58.
- Terci DBL. Aplicações analíticas e didáticas de antocianinas extraídas de frutas [thesis]. Instituto de Química: Universidade Estadual de Campinas; 2004.
- Reynertson KA. Phytochemical analysis of bioactive constituents from edible myrtaceae fruits [thesis]. Faculty in Biology: City University of New York; 2007.
- Damodaran S, Parkin KL, Fennema OR. *Química de alimentos de Fennema*. 4.ed. Porto Alegre: Artmed; 2010.
- Tsuda T, Horio F, Uchida K, Aoki H, Osawa T. Dietary cyanidin 3-O-b-D-glucoside-rich purple corn color prevents obesity and ameliorates hyperglycemia in mice. *J Nutr*. 2003; 133: 2125-30.
- Prior RL, Wu X, Gu L, Hager TJ, Hager A, Howard LR. Whole berries versus berry anthocyanins: interactions with dietary fat levels in the C57BL/6J mouse model of obesity. *J Agric Food Chem*. 2008; 56: 647-53.
- DeFuria J, Bennett G, Strissel KJ, Perfield JW, Milbury PE, Greenberg AS et al. Dietary blueberry attenuates whole-body insulin resistance in high fat-fed mice by reducing adipocyte death and its inflammatory sequelae. *J Nutr*. 2009; 139: 1510-16.
- Xiao Y, Cui J, Li YX, Shi YH, Le GW. Expression of genes associated with bone resorption is increased and bone formation is decreased in mice fed a high-fat diet. *Lipids*. 2010; 45: 345-55.
- Prior RL, Wilkes S, Rogers T, Khanal RC, Wu X, Hager TJ et al. Dietary black raspberry anthocyanins do not alter development of obesity in mice fed an obesogenic high-fat diet. *J Agric Food Chem*. 2010; 58: 3977-83.
- Prior RL, Wilkes SE, Rogers TR, Khanal RC, Wu X, Howard LR. Purified blueberry anthocyanins and blueberry juice alter development of obesity in mice fed an obesogenic high-fat diet. *J Agric Food Chem*, 2010; 58: 3970-76.

Recibido: 16-03-2012

Aceptado: 10-05-2012

Sobrepeso medido por IMC o percibido y comportamientos de control del peso en adolescentes universitarios de Ciudad Guzmán, Jalisco, México.

Hidalgo-Rasmussen Carlos Alejandro, Ramírez-López Guadalupe, Montaña Espinoza Rosa, Hidalgo-San Martín Alfredo

Centro Universitario del Sur. Universidad de Guadalajara. Unidad de Investigación Epidemiológica y en Servicios de Salud del Adolescente (UIESSA). Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS).
Universidad de Santiago de Chile.

RESUMEN. El objetivo fue evaluar las asociaciones entre comportamientos de control de peso y sobrepeso medido por IMC, sobrepeso percibido o percepción errónea del peso en adolescentes por género. Participaron 492 adolescentes universitarios de 17 a 19 años de edad. Se utilizó un cuestionario auto aplicado en línea y se midió peso y estatura. Los análisis estadísticos incluyeron kappa ponderada y regresión logística multivariada. La concordancia entre el peso percibido y el medido por IMC fue 78.7% y la kappa ponderada=0.62. Los adolescentes que percibieron sobrepeso intentaron con más frecuencia bajar de peso, hacer ejercicio y comer menos alimentos que los que tenían sobrepeso medido por IMC. Una cuarta parte intentó bajarlo aún sin percibir o tener sobrepeso real. La posibilidad de tratar de bajar de peso fue mayor en hombres y mujeres con sobrepeso percibido (RM=18.7, IC 95% 6.3-55.3 y RM=10.4, IC 95% 4.5-24.2 respectivamente) y en mujeres que sobrestimaron el peso corporal (RM =6.0, IC 95% 2.8-12.7). Hubo menos posibilidad de tratar de bajar peso cuando se subestimó el peso en hombres (RM = 0.03, IC 95% 0.01-0.12) y mujeres (RM=0.19, IC 95% 0.05-0.70). En conclusión, el comportamiento de bajar de peso se explica mejor en adolescentes en ambos géneros que percibían sobre peso y en mujeres que lo sobre estimaban, mientras que los hombres intentaron menos bajarlo si subestimaban su peso.

Palabras clave: Percepción del peso, sobrepeso, pérdida de peso, índice de masa corporal, conducta del adolescente, nutrición del adolescente.

SUMMARY. Perceived or BMI-measured overweight and weight control behaviors in undergraduate adolescents from Ciudad Guzmán, Jalisco, México. The aim was to evaluate associations between weight control behaviors and overweight measured by BMI, overweight perception or inaccurate weight perception. 492 undergraduate adolescents from 17 to 19 years old participated in the study. A self-administered questionnaire on line was applied and weight and height were measured. Statistical analysis included weighted kappa and multivariate logistic regression. The concordance between weight perception and that evaluated by BMI was 78.7%, weight kappa = 0.62. Adolescents who perceived overweight tried to lose weight, exercised and ate less food more frequently than those who were overweight evaluated by BMI. A quarter tried to lose weight even though they did not perceive or were actually overweight. The odds of trying to lose weight were higher in men and women who perceived overweight (OR = 18.7, CI 95% 6.3-55.3 and OR = 10.4, CI 95% 4.5-24.2, respectively) and women who overestimated overweight (OR = 6.0, CI 95% 2.8-12.7). The odds of trying to lose weight when weight was underestimated were less in men (OR = 0.03, CI 95% 0.01-0.12) and women (OR = 0.19, CI 95% 0.05-0.70). In conclusion the behavior of trying to lose weight was better explained among adolescents of both genders who perceived overweight and among girls who overestimated it.

Key words: Weight perception, overweight, weight loss, body mass index, adolescent behavior, adolescent nutrition.

INTRODUCCIÓN

La prevalencia de sobrepeso y obesidad en la adolescencia se ha incrementado en los últimos años, junto con los comportamientos de riesgo para su control (1,2), que se asocian a múltiples patologías, conllevan consecuencias psicosociales negativas,

aumentan la probabilidad de ser adulto obeso y morir prematuramente con altos costos para el individuo y la sociedad (2). De acuerdo con la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2006, la prevalencia de sobrepeso y obesidad en adolescentes mexicanos fue de 31.2% en hombres y 32.5% en mujeres (3).

Se espera que las mujeres sean delgadas y los hom-

bres atléticos y altos para ser aceptados socialmente (4), por lo que la adolescencia es un periodo crítico para desarrollar problemas de nutrición (5). El miedo a ganar peso es una preocupación muy importante en adolescentes mexicanos (6), se encontró que el 43.4% trató de controlarlo, y cuando percibieron sobrepeso u obesidad esto se incrementó hasta un 77.1% (7), y aún sin tener sobrepeso lo intentó un 28% (8).

La percepción incorrecta del peso corporal es frecuente en la adolescencia; algunos estudios la han encontrado en un tercio de mujeres y un cuarto de hombres (9,10). En estudiantes universitarias europeas una importante proporción con peso normal se consideraba con sobrepeso (11). En un estudio mexicano 22.4% de las adolescentes y 11.0% de los varones sobrestimaron el peso (12). En otro estudio se encontró que estudiantes mexicanas de 15-19 años de escuelas públicas de nivel medio superior subestimaron el peso 1.3 kg en promedio, en todas las edades, en zonas de marginación o migración baja (13). Además que del 7-33% de los adolescentes en México les preocupa engordar (6). Las mujeres tuvieron más comportamientos alimentarios de riesgo como dieta, ayuno o ejercicio excesivo y en menor proporción la inducción de vómito y consumo de medicamentos para perder peso (3), particularmente entre 18 y 19 años (12).

Debido al incremento de sobrepeso en jóvenes y a que un porcentaje importante realiza comportamientos de riesgo para bajarlo se diseñó este estudio en adolescentes universitarios para analizar por género las relaciones entre sobrepeso, percepción del sobrepeso o percepción errónea del peso con los comportamientos del control del peso y los comportamientos para perderlo. Estos resultados podrán servir para diseñar programas de control del peso en adolescentes.

MATERIALES Y MÉTODOS

Estudio observacional, transversal y analítico realizado en estudiantes de Cd. Guzmán, Jalisco, México provenientes de zona urbana y rural. El marco muestral comprendió 610 estudiantes menores de 20 años, inscritos al 1^{er} semestre del Centro Universitario del Sur de la Universidad de Guadalajara. Se excluyó a quienes no aceptaron contestarlo [54], o no tenían medidas de peso y estatura [64], por lo que la muestra total fueron 492 adolescentes. No se observaron diferencias en el índice masa corporal (IMC) entre los que

aceptaron contestar y los que no aceptaron ($p=0.768$). Tampoco hubo diferencias entre quienes tenían datos de peso y estatura [492] y no los tenían [64] en cuanto a género ($p=.965$), edad ($p=.390$) o descripción del peso ($p=.680$).

Procedimientos.

Una vez que las autoridades escolares autorizaron que se realizaría el estudio, se invitó a los estudiantes a participar durante el curso introductorio a la Universidad. El estudio se llevó a cabo en agosto de 2010. El investigador responsable explicó a los estudiantes la forma de llenado de los cuestionarios y pidió consentimiento informado para participar en la investigación. Se utilizó un cuestionario autoaplicado que se llenó en línea en el aula de cómputo de la Universidad. Posteriormente se realizaron las medidas antropométricas en el auditorio de la misma. El cuestionario incluyó datos sociodemográficos (edad, sexo, ocupación del estudiante y escolaridad y ocupación de padres de familia), preguntas sobre el peso corporal y actividad física tomadas del cuestionario 2007 Youth Risk Behavior Survey (YRBS) (14). La confiabilidad y validez del cuestionario YRBS han sido evaluados (15-16).

Variables

Estado nutricional según IMC medido. Enfermeras capacitadas midieron estatura y peso con procedimientos estandarizados (17). Se emplearon básculas (Torino modelos Persona y Persona plus), con precisión de 0.1 kg y estadímetro con precisión de 0.5 cm. Para evaluar el estado de nutrición se utilizaron los puntos de corte internacionales del IMC (peso/talla²). El bajo peso se define con el IMC según sexo y edad que pasa a través del $IMC < 18.5 \text{ kg/m}^2$ a los 18 años (18) y el sobrepeso y obesidad con el IMC según sexo y edad que pasa por el IMC igual a 25 kg/m^2 y 30 kg/m^2 a los 18 años, respectivamente (19).

Percepción del peso. Se preguntó *¿Cómo describes tu peso?* Las opciones de respuesta fueron: *muy bajo, ligeramente bajo, cerca del correcto, ligeramente con sobrepeso y con mucho sobrepeso.*

Comportamientos de control del peso. Se preguntó *¿Cuál de las siguientes has tratado de hacer acerca de tu peso?* Las opciones de respuesta fueron: *bajar de peso, mantener el peso, subir de peso, o no hacer nada sobre mi peso.*

Comportamientos para perder peso o evitar subirlo. Se incluyeron cinco preguntas *¿Durante los últimos 30 días, hiciste ejercicio para perder o evitar*

subir de peso? ¿Durante los últimos 30 días comiste menos alimentos, menos calorías o alimentos bajos en grasa para perder peso o evitar subir de peso? ¿Durante los últimos 30 días dejaste de comer por 24 horas o más para perder peso o dejar de ganar peso? ¿Durante los últimos 30 días tomaste píldoras, polvos o líquidos sin supervisión de un médico para perder o evitar subir de peso? ¿Durante los últimos 30 días vomitaste o tomaste laxantes para perder peso o evitar subir de peso? Las opciones de respuesta fueron sí/no.

Actividad física. Se preguntó: Durante los últimos 7 días, ¿Cuántos días estuviste activo físicamente por un total de 60 minutos por día? (suma todo el tiempo que pasaste en cualquier clase de actividad que aumentara tu ritmo cardíaco e hiciera respirar más fuerte en algún momento). Las opciones de respuesta fueron de 0 a 7 días.

Nivel socioeconómico. Se evaluó con ocupación y escolaridad del jefe de familia y se clasifica como: alto y medio alto, medio bajo, alta trabajadora y baja trabajadora según Rivas Torres (20).

Consideraciones éticas.

El proyecto fue aprobado por el Comité de Bioética del Centro de Investigaciones en Comportamiento Alimentario y Nutrición del Centro Universitario del Sur, (Oficio 001/009) de acuerdo con la Declaración de Helsinki de las Pautas Éticas Internacionales para la Investigación Biomédica en Seres Humanos de la Asociación Médica Mundial y la Ley General de Salud de México sobre la investigación en seres humanos. La participación fue voluntaria y se obtuvo consentimiento informado de los estudiantes, no se solicitó consentimiento informado de padres por corresponder a una investigación de riesgo mínimo.

Análisis estadístico.

Para evaluar diferencias de porcentajes se utilizó la prueba de X^2 o exacta de Fisher. Para obtener la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN) de la percepción del peso respecto al estado nutricional medido por IMC, se recodificó la percepción del peso en: *sobrepeso* (ligeramente con sobrepeso + mucho sobrepeso) y *sin sobrepeso* (muy bajo + ligeramente bajo + cerca del correcto) y el estado nutricional en *sobrepeso* (sobrepeso + obesidad) y *sin sobrepeso* (normal + bajo peso). Para evaluar la concordancia entre percepción de peso y estado nutricional: a) se recodificó la percepción de peso en: *bajo peso* (muy bajo + ligeramente bajo), *cerca*

del correcto y sobrepeso (ligeramente con sobrepeso + con mucho sobrepeso); b) se recodificó el estado nutricional en: *bajo peso*, *normal* y *sobrepeso* (sobrepeso + obesidad) y c) se utilizó la prueba de kappa ponderada (21) (acuerdo total: 1.0, desacuerdo de categorías adjuntas: 0.5 y desacuerdo a dos categorías de distancia: 0.0). Los valores se interpretaron según la escala de Landis y Koch (21). Las asociaciones se estimaron con análisis de regresión logística simple y múltiple. Se hicieron las siguientes categorías de percepción errónea: no errónea (percepción del peso en categoría equivalente al estado nutricional), subestimación (cuando percibe una categoría inferior del estado nutricional) y sobrestimación (cuando percibe una categoría superior al estado nutricional). Para evaluar el ajuste del modelo se utilizó prueba de Hosmer-Lemeshow y para evaluar la multicolinealidad el factor de inflación de la varianza. Un valor $p < 0.05$ se consideró estadísticamente significativo. Los análisis estadísticos se realizaron con Stata9.0 (StataCorp LP, Texas, USA).

RESULTADOS

Participaron 492 adolescentes de 17 a 19 años de edad, de los cuales, 60.6% fueron mujeres, 26.0% trabajaban, 99.2% solteros o solteras, 36.0% de nivel socioeconómico alto y medio alto, 20.1% medio bajo y 43.9 % clase trabajadora.

Casi la mitad tenía estado nutricional normal y más de un tercio sobrepeso y obesidad de acuerdo con el IMC medido. Los hombres tuvieron mayor prevalencia de sobrepeso y obesidad que las mujeres. En cuanto a la percepción del peso en todas las categorías fue semejante a las mediciones del estado nutricional y no hubo diferencias por género. En los comportamientos de control de peso se observó que casi la mitad intentó bajarlo y las mujeres lo hicieron con más frecuencia que los hombres. Por otro lado, los hombres trataron de subirlo más frecuentemente que las mujeres (Tabla 1). Para bajar de peso o evitar subir, un poco más de la mitad realizó ejercicio y más de la tercera parte consumió menos alimentos (Tabla 4). Las mujeres comieron menos alimentos, calorías o alimentos bajos en grasa (mujeres 128 (43%) vs hombres 62 (43%) $p=0.014$) y se provocaron el vómito o consumieron laxantes con más frecuencia que los hombres (mujeres 8 (2.7%) vs hombres 0 (0%) $p=0.025$).

La concordancia entre la percepción del peso y el

estado nutricional fue 78.7% y la kappa ponderada mostró un buen acuerdo (mayor en mujeres que en hombres). El 8.1% subestimó el sobrepeso con mayor proporción en hombres que en mujeres. Por otra parte, ellas sobrestimaron más el bajo peso y el peso normal que los hombres. (Tabla 2)

La sensibilidad y especificidad de la percepción de peso de acuerdo con el estado nutricional medido por el IMC en la población total fue 77.4% y 88.9% respectivamente. El VPP fue 79.7% y el VPN fue 87.5%. En las mujeres, en comparación con los hombres, la sensibilidad fue mayor (88.3% vs. 65.1%), la especificidad

TABLA 1.
Estado nutricional según IMC medido, percepción del peso, comportamiento de control de peso, comportamientos para perder o evitar subir de peso en adolescentes.

Variable	Total n=492	Mujeres n=298	Hombres n=194	P
Estado nutricional según IMC medido				
Bajo peso	27 (5.5)	22 (7.4)	5 (2.6)	0.007*
Normal	288 (58.5)	182 (61.0)	106 (54.6)	
Sobrepeso y obesidad	177 (36.0)	94 (31.5)	83 (42.8)	
Percepción del peso				
Muy bajo y ligeramente bajo	35 (7.1)	19 (6.4)	16 (8.3)	0.151
Cerca del correcto	285 (57.9)	165 (55.4)	120 (61.9)	
Ligero y mucho sobrepeso	172 (35.0)	114 (38.3)	58 (30.0)	
Comportamiento de control del peso				
Bajar	231 (47.0)	158 (53.0)	73 (37.6)	0.002*
Mantener	155 (31.5)	90 (30.2)	65 (33.5)	
Subir	55 (10.4)	28 (7.4)	27 (15.0)	
Nada	51 (11.1)	22 (9.4)	29 (13.9)	

Los valores representan frecuencias (porcentajes).

*Prueba de chi cuadrada o exacta de Fisher.

TABLA 2.
Concordancia entre la percepción del peso y estado nutricional según IMC medido en adolescentes universitarios por género. Cd. Guzmán, Jalisco, 2010.

Percepción del peso	Estado nutricional según IMC medido			Concordancia %	Kappa ponderada	P
	Bajo peso	Normal	Sobrepeso u obesidad			
Total						
Bajo peso	3.0	3.9	0.2	78.7	0.62	<0.001
Cerca del correcto	2.2	47.8	7.9			
Sobrepeso	0.2	6.9	27.9			
Mujeres						
Bajo peso	3.7	2.3	0.3	80.2	0.65	<0.001
Cerca del correcto	3.4	48.7	3.4			
Sobrepeso	0.3	10.1	27.9			
Hombres						
Bajo peso	2.1	6.2	0.0	76.3	0.58	<0.001
Cerca del correcto	0.5	46.5	14.9			
Sobrepeso	0.0	2.1	27.8			

Los valores en las celdas representan porcentajes el total de cada grupo y suman 100%.

En percepción del peso la variable bajo peso se refiere a "muy bajo" + "ligeramente bajo" y sobrepeso se refiere a "ligero sobrepeso" + "mucho sobrepeso"

cidad menor (84.8% vs. 96.4%), el VPP menor (72.8% vs. 93.1%) y elVPNmayor(94.0% vs. 78.7%).

Casi el 90% de los adolescentes que percibieron sobrepeso y lo tenían en realidad intentaron bajar de peso y cuando tenían sobrepeso medido por IMC lo intentaron casi en un 80%. Además, casi un cuarta parte intentó bajarlo aún sin percibir sobrepeso y casi una tercera parte sin tenerlo realmente. Se observaron al-

gunas diferencias por género; las mujeres intentaron bajar de peso más que los hombres cuando percibieron sobrepeso pero no lo tenían o cuando no tenían sobrepeso realmente. Por el otro lado, cuando los hombres tenían sobrepeso medido por IMC intentaron mantener el peso más que las mujeres. Asimismo, cuando ellos no percibieron o no tenían sobrepeso intentaron subirlo más que las mujeres (Tabla 3)

TABLA 3
Comportamiento de control de peso según sobrepeso percibido o sobrepeso u obesidad medido por IMC en adolescentes por género. Cd. Guzmán, Jalisco, 2010.

Comportamiento de control de peso	Sobrepeso percibido			Sobrepeso u obesidad medido por IMC		
	Total	Mujeres	Hombres	Total	Mujeres	Hombres
Con sobrepeso u obesidad percibido o medido						
Bajar	154 (89.5)	102 (89.5)	52 (89.7)	139 (78.5)	81 (86.1)	58 (69.9)
Mantener	12 (7.0)	7 (6.1)	5 (8.6)	25 (14.2)	7 (7.5)	18 (21.7)
Subir	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (1.1)	0 (0)	2 (2.4)
Nada	6 (6.2)	5 (6.4)	1 (6.1)	11 (6.2)	6 (6.4)	5 (6.0)
Sin sobrepeso u obesidad percibido o medido						
Bajar	77 (24.1)	56 (30.4)	21 (15.4)**	92 (29.2)	77 (37.7)	15 (13.5)***
Mantener	143 (44.7)	83 (45.1)	60 (44.1)	130 (41.3)	83 (40.7)	47 (42.3)
Subir	51 (15.9)	22 (12.0)	29 (21.3)*	49 (15.5)	22 (10.8)	27 (24.3)**
Nada	49 (15.3)	23 (12.5)	26 (19.2)	44 (14.0)	22 (10.8)	22 (19.9)

Los valores en las celdas son frecuencias (porcentajes).

Las pruebas de diferencias de proporciones se realizaron entre género

* p< 0.05 ** p < 0.005 ***p < 0.001

TABLA 4.
Comportamientos para bajar o evitar subir de peso según sobrepeso percibido o sobrepeso u obesidad medido por IMC en adolescentes. Cd. Guzmán, Jalisco, 2010

Comportamiento para bajar peso	Total	Sobrepeso percibido			Sobrepeso medido por IMC		
		Sí	No	P	Sí	No	P
Hacer ejercicio	277 (56.3)	122 (70.9)	155 (48.4)	<0.001	128 (72.3)	149 (47.3)	<0.001
Comer menos alimentos	190 (38.6)	116 (67.4)	74 (23.1)	<0.001	104 (58.7)	86 (27.3)	<0.001
Dejar de comer por 24 horas	12 (2.4)	9 (5.2)	3 (0.9)	0.005	7 (4.0)	5 (1.6)	0.129
Consumir píldoras, polvos o líquidos	18 (3.7)	12 (7.0)	6 (1.9)	0.004	10 (5.65)	8 (2.5)	0.078
Vomitarse o tomar laxante	8 (1.6)	4 (2.3)	4 (1.3)	0.459	2 (1.1)	6 (1.9)	0.717

Los valores en las celdas son frecuencias (porcentajes).

El valor de P de la prueba de chi cuadrada o exacta de Fisher.

El porcentaje de comportamientos para bajar de peso o evitar subirlo como hacer ejercicio, comer menos alimentos, dejar de comer 24 horas y consumir píldoras, polvos o líquidos para perder peso fue mayor en los adolescentes que percibieron sobrepeso en comparación de los que no lo percibieron. Se observaron resultados similares entre los que tenían sobrepeso -medido por IMC-en comparación de los que no tenían. Esto mismo se comparó por género pero no se observaron diferencias estadísticamente significativas (no se muestran datos). (Tabla 4)

Los adolescentes que percibieron sobrepeso tuvieron más posibilidad de tratar de bajar de peso independientemente de que tuvieran o no sobrepeso (RM = 12.61 IC95% 6.53, 24.37, datos no incluidos) y la relación fue mayor en hombres que en mujeres (RM= 18.68 y RM= 10.44, respectivamente). Al analizar la relación entre bajar de peso y la exactitud en la evaluación del peso se encontró que los que sobrestimaron el peso intentaron bajar de peso más que los que

lo evaluaron correctamente (RM =5.9, IC95% 2.77-12.67, datos no incluidos) y cuando se analizó por género se encontró que únicamente las mujeres lo intentaron (RM=5.95). Además cuando tenían sobrepeso (medido por IMC), la posibilidad de bajar de peso se incrementó en hombres (RM=60.37) y mujeres (RM=16.27). Asimismo los hombres y mujeres que subestimaron el peso intentaron bajarlo menos, independientemente de que tuvieran o no sobrepeso medido por IMC(RM= 0.03 y RM=0.19, respectivamente). (Tabla 5)

DISCUSIÓN

En nuestro estudio más de la tercera parte de adolescentes tuvo sobrepeso medido o percibido, similar a la prevalencia nacional y del estado de Jalisco (22). Al comparar la percepción del peso con el estado nutricional, la concordancia fue mayor en nuestro estudio (0.62) que en adolescentes de menor edad (0.31-0.50)

TABLA 5.
Comportamiento de bajar de peso con sobrepeso u obesidad medido por IMC, percepción del peso y percepción errónea del peso en adolescentes por género

Bajar de peso	Mujeres		Hombres	
	RM crudo (IC 95%)	RM ajustado (IC 95%)	RM crudo (IC 95%)	RM ajustado (IC 95%)
Sobrepeso u obesidad medido por IMC y Percepción de peso				
Sobrepeso u obesidad por IMC	8.50** (4.41-16.36)	1.87 (0.78-4.50)	11.6** (5.54-24.27)	2.67* (1.04-6.83)
Percepción de sobrepeso	15.27** (7.70-30.27)	10.44** (4.50-24.18)	33.02** (12.49-87.28)	18.68** (6.31-55.28)
Percepción de bajo peso	0.4 (0.08-1.91)	0.39 (0.08-1.88)	‡	‡
Sobrepeso u obesidad medido por IMC y Percepción errónea del peso				
Sobrepeso u obesidad por IMC	8.50** (4.41-16.36)	16.27** (7.54-35.09)	11.6** (5.54-24.27)	60.37** (18.9-195.94)
Sobreestima el peso	2.58* (1.16-5.72)	5.95** (2.61-13.61)	1.05 (0.14-7.66)	4.78 (0.62-37.13)
Subestima el peso	0.83* (0.28-2.44)	0.19* (0.05-0.70)	0.35* (0.15-0.83)	0.03** (0.01-0.12)

En la variable dependiente bajar de peso el grupo de referencia fue mantener el peso + no hacer nada con el peso.

En percepción del peso los modelos se ajustaron por sobrepeso u obesidad (sí/no) y percepción del peso (correcto, sobrepeso o bajo peso). En percepción errónea del peso los modelos se ajustaron por sobrepeso u obesidad (sí/no) y percepción errónea del peso (correcto, sobreestima o subestima). La percepción del peso correcto fue tomada como referencia siendo su RM crudo o RM ajustado igual a 1.0. ‡ No pudo ser estimado porque no hubo adolescentes varones que percibieran bajo peso y trataran de bajar de peso.

*p< 0.05 **p< 0.001

(7,10). Esto podría deberse a que en la adolescencia tardía existe una mayor preocupación por engordar que en la etapa temprana (12). En este sentido, la percepción errónea del peso fue menor en nuestro estudio (21.3%), que en adolescentes de menor edad (22.5-32.8%) (7,9). Con relación al género, las mujeres evaluaron mejor el peso que los hombres, probablemente por la presión social que las lleva a pesarse con más frecuencia (6,12). Similar a otros estudios, los hombres subestimaron y las mujeres sobrestimaron más el sobrepeso (12,13). La sobrestimación del sobrepeso en mujeres puede explicarse por la insatisfacción de la imagen corporal (23). A pesar de que los hombres tuvieron más sobrepeso que las mujeres, ellos lo percibieron menos, como en otros estudios (7), probablemente debido a que los varones se sienten más libres de prejuicios sobre su cuerpo (24).

Un alto porcentaje de los que percibieron sobrepeso trataron de bajarlo (alrededor del 90%) y un poco menos cuando en realidad lo tenían (78.5%). Estas cifras son más altas que en adolescentes norteamericanos (7,10), lo cual podría deberse a las políticas de prevención del sobrepeso en nuestro país. Llama la atención que los hombres que percibieron sobrepeso tuvieron más probabilidad de bajar de peso que las mujeres, similar en varones mexicanoamericanos (10) pero contrario a adolescentes de otros países en donde las mujeres tuvieron más probabilidad que ellos (7,8,25). Esto se puede asociar al incremento en la preocupación por engordar en los últimos años en adolescentes varones en México (6,12), a que en nuestro estudio ellos tuvieron más sobrepeso que las mujeres o por otras cuestiones culturales. Queda por contestar si esto se asocia a que los hombres estén aumentando su insatisfacción corporal, como en las mujeres (23) o para mejorar su salud como en los hombres adultos (25). Por otra parte, debido al incremento del sobrepeso en México, es importante señalar que casi 15% de adolescentes que sí tenían sobrepeso no hicieron nada al respecto. Es claro que este grupo requiere atención ya que no sólo existe el riesgo de que sufran efectos negativos sobre la salud desde estas edades sino que se aumenta también el riesgo de convertirse o seguir siendo obeso de adulto.

En nuestro estudio y otros (8), una cuarta parte de

quienes percibieron sobrepeso y no lo tenían intentaron bajarlo. Además, las mujeres que sobrestimaron el peso tuvieron más posibilidad de tratar de bajar peso. Los adolescentes consumieron con más frecuencia píldoras, polvos o líquidos para bajar de peso cuando percibieron sobrepeso, como otros han señalado (26), el que lo hagan sin supervisión médica pone en riesgo su salud. Estos resultados muestran la necesidad de realizar campañas de control del peso de forma diferenciada según la percepción del peso, que promuevan un crecimiento saludable, eviten trastornos alimentarios y detengan la ganancia de peso cuando éste no es saludable a través de medidas a largo plazo que logren modificar los estilos de vida saludables.

El ejercicio fue la práctica más utilizada para perder peso, como en otros estudios (25,27), pero sólo el 8.7% de estudiantes de nuestro estudio cumplió con la recomendación de hacerlo una hora diaria (28). Esto probablemente se deba, entre otros factores, a que lo consideran aburrido o cansado (25).

Las limitaciones del trabajo se derivan de ser un estudio transversal por lo que no se puede establecer causalidad en las asociaciones encontradas. Además, debido a que no se estudiaron otros comportamientos alimentarios saludables para bajar de peso (consumo de frutas y verduras, desayuno, entre otros), no pudimos evaluar la calidad de la dieta. Asimismo los resultados de este estudio no pueden extrapolarse a adolescentes de preparatorias privadas.

Los resultados de nuestro estudio muestran que el intento de perder peso es mayor en los hombres que en mujeres cuando perciben sobrepeso que cuando en realidad lo tienen pero en las mujeres lo intentaron también cuando lo sobrestimaron. Los adolescentes están expuestos a realizar comportamientos de riesgo para perder peso cuando perciben sobrepeso. Además, un porcentaje importante está intentando bajar de peso aún sin tener sobrepeso, especialmente mujeres. Aunque el ejercicio es la práctica más utilizada para perder peso, la frecuencia con la que lo realizan es insuficiente. Por todo esto, es urgente realizar campañas dirigidas a adolescentes que enfatizan sobre el estado nutricional recomendable, la aceptación de la imagen corporal, el incremento en la actividad física y el control del peso con comportamientos saludables.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece al Mtro. Gerardo Jiménez Haro por programar el cuestionario en línea.

REFERENCIAS

1. Centers for Disease Control and Prevention. Youth Risk behavior Surveillance- United States, 2007. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2008; 57: 1-131.
2. World Health Organization. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO Consultation. WHO Technical Report Series 894. 2000.
3. Olaiz-Fernández G, Rivera-Dommarco J, Shamah-Levy T, Rojas R, Villalpando-Hernández S, Hernández-Avila M. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2006. 2a. edición. Cuernavaca, México: Instituto Nacional de Salud Pública; 2006.
4. Parizkova J, Hills A. Psychosocial aspects of obesity. In *Childhood obesity*. 2a. edición. Florida: CRC Press; 2005.
5. Dietz WH. Critical periods in childhood for the development of obesity. *Am J Clin Nutr*. 1994; 59: 955-9.
6. Barriguete-Meléndez JA, Unikel-Santoncini C, Aguilar-Salinas C, Córdoba-Villalobos JA, Shamah T, Barquera SD, et al. Prevalence of abnormal eating behaviors in adolescents in Mexico (Mexican National Health and Nutrition Survey 2006). *Salud Publica Mex*. 2009; 51: S638-44.
7. Wang Y, Liang H, Chen X. Measured body mass index, body weight perception, dissatisfaction and control practices in urban, low-income African American adolescents. *BMC Public Health*. 2009; 9:183.
8. Ojala K, Vereecken C, Välim R, Currie C, Villberg J, Tynjälä J, et al. Attempts to lose weight among overweight and non-overweight adolescents: a cross-national survey. *Int J Behav Nutr Phys Act*. 2007; 4:50
9. Brener ND, Eaton DK, Lowry R, McManus T. The Association between Weight Perception and BMI among High School Students. *Obes Res*. 2004;12:1866-74.
10. Yan A, Zhang G, Wang M, Stoesen C, Harris M. Weight Perception and Weight Control Practice in a Multiethnic Sample of US Adolescents. *South Med J*. 2009; 102:354-60.
11. Mikolajczyk RT, Maxwell A, El Ansari W, Stocks C, Petkeviciene J, Guillen-Grima F. Relationship between perceived body weight and body mass index based on self-reported height and weight among university students: a cross-sectional study in seven European countries. *BMC Public Health*. 2010;10:40.
12. Unikel-Santoncini C, Bojórquez-Chapel I, Villatoro-Velázquez J, Fleiz-Bautista C, Medina-Mora Icaza ME. Conductas alimentarias de riesgo en población estudiantil del Distrito Federal: tendencias 1997-2003. *Rev Invest Clin*. 2006; 58:15-27.
13. Unikel-Santoncini C, Ocampo-Ortega R, Zambrano-Ruiz J. Exactitud del autorreporte de peso y talla en mujeres de 15 a 19 años del Estado de México *Salud Pública Mex*. 2009; 51(3):194-201
14. Centers for Disease Control and Prevention. State and local Youth Risk Behavior Survey. 2007 State and local Youth Risk Behavior Survey. [serie en internet].; 2007 [consultado 2006 Julio 20 [20 pantallas]]. Disponible en: <http://www.cdc.gov/healthyyouth/yrbs/pdf/questionnaire/2007HighSchool.pdf>.
15. Brener ND, Collins J, Kann L, Warren C, Williams B. Reliability of the Youth Risk Behavior Survey Questionnaire. *Am J Epid*. 1995; 141: 575–80.
16. Rosen JC, Poplawski D. The validity of self-reported weight loss and weight gain efforts in adolescents. *Int J Eat Dis*. 1987; 87 (6): 515–23.
17. Lohman T, Roche A, Martorell R. *Anthropometric Standardization Reference Manual* Champaign IL: Human Kinetics Books; 1988.
18. Cole TJ, Flegal K, Nicholls D, Jackson A. Body mass index cut offs to define thinness in children and adolescents: international survey. *BMJ*. 2007; 335:194-7.
19. Cole T, Bellizzi M, Flegal K, Dietz W. Establishing a standard definition for child overweight and obesity worldwide: international survey. *BMJ*. 2000; 320:1240-3.
20. Rivas Torres R, Bianchi-Aguila R. El nivel socioeconómico en la investigación. *Rev AMMO*. 1991;2: 44-5.
21. Szklo M, Nieto J. *Epidemiology beyond the basics* Gaithersburg, Maryland: Aspen Publishers Inc.; 2000.
22. Instituto Nacional de Salud Pública. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2006. Resultados por entidad federativa, Jalisco. Cuernavaca; 2007.
23. Valverde P, Rivera F, Moreno C. Diferencias de sexo en imagen corporal, control de peso e Índice de Masa Corporal de los adolescentes españoles. *Psicothema*. 2010;22:77-83.
24. Filguerías Toneli MJ, Galvão Adrião K, Beiras A. Reflexiones sobre corporeidad y constitución de subjetividades en jóvenes de una ciudad del sur de Brasil. *Revista de Estudios de Género. La ventana [en línea]* 2009, [citado 2011-11-15]. Disponible en

- Internet: <http://redalyc.uaemex.mx/src/inicio/artpdfred.jsp?Icve=88412190009>. ISSN 1405-9436.
25. Rodríguez-Rodríguez E, Aparicio A, López-Sobaler A. Percepción del peso corporal y medidas adoptadas para su control en población española. *Nutr Hosp.* 2009;24: 580-7.
26. Saucedo-Molina T, Unikel C. Conductas alimentarias de riesgo, interiorización del ideal estético de delgadez e índice de masa corporal en estudiantes hidalguenses de preparatoria y licenciatura de una institución privada. *Salud Mental.* 2010;33:11-9.
27. Marcelino G, Oliveira JM, Ravasco P, Marques-Vidal P. Weight concerns and weight reduction practices of Portuguese adolescents. *Nutr Hosp.* 2009; 24:751-62.
28. U.S. Department of Health and Human Service. 2008 Physical Activity Guidelines for Americans. Washington, DC: U.S.; 2008.

Recibido: 08-12-2012

Aceptado: 21-04-2012



**COMPLETE SU COLECCION DE
ARCHIVOS LATINOAMERICANOS
DE NUTRICION**

ALAN

Apreciado suscriptor:

Ofrecemos la oportunidad de completar su colección de ALAN a precios reducidos

Escribanos indicando los ejemplares (Volumen y Número) faltantes en su colección a:

OFICINA EDITORIAL

Apartado 62778 / Chacao

Caracas 1060

Venezuela

Fax: (58-212) 286.0061

email: info@alanrevista.org

Usted recibirá confirmación de disponibilidad y una cotización de precios

Food advertising and television exposure: influence on eating behavior and nutritional status of children and adolescents

Suzane Mota Marques Costa, Paula Martins Horta, Luana Caroline dos Santos.

Department of Physiology and Pharmacology, Institute of Biological Sciences, Federal University of Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brazil. Department of Maternal-Infant Nursing and Public Health, Nursing School, Federal University of Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brazil.

SUMMARY. This study aimed to evaluate the influence of food advertising and television exposure on eating behaviour and nutritional status of children and adolescents. It was a cross sectional study developed among 116 students from a private school in Brazil. Socio-demographic and health conditions were evaluated. Anthropometric data, food consumption, physical activity, television viewing habits and behaviour in relation to food advertising were also investigated. Among the results, a 1:2 relationship was identified between the number of televisions and residents per household. Excessive weight was present in 25.8% of subjects and 66.4% of children watched television while eating. Children were exposed to television for a median of 3.0 hours daily (95% CI: 2.9 to 3.6). There was a direct association between attraction to foods advertised and purchasing the product ($p < 0.001$) and a positive relationship between the number of televisions per household and body weight ($r = 0.246$, $p = 0.015$) and the amount of liquid consumed during meals ($r = 0.277$, $p = 0.013$). Findings also highlighted the association between watching television while eating and the reduced probability of fruit consumption ($p = 0.032$), contrasted with a greater likelihood of daily artificial juice intake ($p = 0.039$). In conclusion, watching television is associated with lower probability of daily consumption of fruits and the number of television at household is positively related to BMI in children and adolescents.

Key words: Anthropometry, food consumption; food publicity, television.

RESUMEN. Publicidad de los alimentos y la exposición a la televisión: Influencia sobre la conducta alimentaria y el estado nutricional de los niños y adolescentes. El estudio objetivo evaluar la influencia de la publicidad de alimentos y la exposición a la televisión en la conducta alimentaria y estado nutricional de niños y adolescentes. El estudio es transversal con 116 estudiantes de una escuela privada en Brasil. Información sociodemográfica y de la condición de salud fueron evaluadas. Antropometría, el consumo de alimentos, practica de actividad física, hábitos de ver la televisión y el comportamiento en relación con la publicidad de alimentos también fueron investigados. Entre los resultados, una relación de 1:2 fue identificada entre el número de televisores por hogar y los residentes. El exceso de peso estaba presente en 25,8% de los sujetos y 66,4% de ellos veían la televisión mientras comían las refecciones. Los niños fueron expuestos a la televisión por un promedio de 3,0 horas al día (95% IC: 2,9-3,6). Se observó una asociación directa entre la atracción de los alimentos anunciados y la compra del producto ($p < 0,001$) y una relación positiva entre el número de televisores por hogar y el peso corporal ($r = 0,246$; $p = 0,015$) y la cantidad de liquido consumido durante las refecciones ($r = 0,277$; $p = 0,013$). Los resultados presentó la asociación entre ver la televisión mientras se alimenta y la probabilidad de reducción del consumo de frutas ($p = 0,032$), en contraste con una mayor probabilidad de consumo de jugo artificial ($p = 0,039$). En conclusión, ver la televisión en demasiado se asocia con una menor probabilidad de consumo diario de frutas y el numero de televisores en el hogar se relaciona positivamente con el índice de masa corporal.

Palabras clave: Antropometría, consumo de Alimentos, publicidad de alimentos, televisión.

INTRODUCTION

The last decades were marked by an increase in the occurrence of childhood and adolescent obesity in developing countries, such as Brazil (1). This condition is defined as multifactorial and is influenced by biological, psychological, socioeconomic and environ-

mental factors (2). Among these, the role of television exposure and food advertising with poor nutritional content has been shown to contribute to excessive weight gain and inappropriate food consumption (3).

Statistical projections show that if children and adolescents were less exposed to food advertising from 80.5 minutes per week (United States average)

to zero, which is not a feasible format to allow analysis of the effect of these advertisements on the obesity rate, the total food consumption by American children and adolescents would drop by 4.5%. This reduction represents a decrease of 0.38 kg/m² in the body mass index (BMI) average of this population and a decrease in the prevalence of obesity among boys from 17.8 to 15.2% and in girls from 15.9 to 13.5%. In addition to these estimates, some experts believe that these figures could eventually drop to 11 and 9%, respectively (4).

Literature has also indicated that exposure to food advertising corresponds to a greater likelihood of daily consumption of sweets and soft drinks to the detriment of fruit and vegetable consumption (5).

Considering the current debate over television exposure and food advertising and their influence on food intake and body weight, in addition to the facts that a) during a period of one year, an individual is exposed to more than 40,000 advertisements and b) food industries spend around \$9.6 billion in marketing their products, of which \$1.7 billion is specifically targeted to children and adolescents (6), the present study aimed to evaluate the influence of food advertising and television exposure on the eating behaviour and nutritional status of children and adolescents.

MATERIALS AND METHODS

Study design and sample

This was a cross-sectional study developed among children and adolescents enrolled in a private school in Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil. Three hundred and fifty students were enrolled in the school, who attended either in the morning (n=200) or evening (n=150), and whose ages ranged from kindergarten through high school.

A convenience sample was adopted. All children and adolescents who were enrolled in elementary school (n=250, 71.4% of total students) and answered the questionnaire of data collection and whose parents or guardians authorized their participation in the study were included in the sample. This authorization was obtained by signing a term of informed consent after reading an explanation of the research objectives, measures and information to be collected and the risks and discomforts involved in the research, according to the guidelines laid down in the Declaration of Helsinki. The present study was approved by Research

Ethics Committee of the Federal University of Minas Gerais under protocol number 091/09.

The age group from 7 to 15 years was studied, taking into consideration that it is the group most exposed to food advertising and television (7), in addition to the fact that children under seven have more difficulty understanding the advertising content (8).

Data collection

Data were collected by applying a self-administered and self-explanatory questionnaire. Socio-demographic and economic variables, levels of regular physical activity and food consumption were evaluated. Parents or guardians of children (7 to 09 years) were given the task of answering the questionnaire, and adolescents (10 to 15 years) responded to questions by themselves.

Concerning socio-demographic and economic variables, the sex and age of the students and the nature of the family head (father, mother or other) and his/her educational level were investigated. In addition, the number of residents and televisions per household and family income were also evaluated.

TABLE 1
Socio-demographic and economic conditions of children and adolescents from a private school in Brazil in 2009.

Socio-demographic and economic conditions	Frequency (%)
Sex - Female	67.2
Age group - Adolescent	72.4
Family head	
Father	60.5
Mother	31.6
Other	7.9
Family head schooling	
Elementary school	20.2
High school	37.7
Higher education	42.1
Family Income (R\$)	
≤1,000.0	29.7
1,000.1-1,999.9	32.7
2,000.0-2,999.9	15.8
≥3,000.0	21.8

The respondents were also asked about their weekly frequency of physical activity, time (in hours) spent in physical activity per day and the place where physical activity most commonly occurred (such as school or home, for example).

Food consumption was investigated by applying a Food Frequency Questionnaire (FFQ) and focused on eating habits. The FFQ, which was qualitative and designed specifically for this study, referred to the six months preceding the interview and contained 14 types of food from different food groups, including the most common products consumed by Brazilian children and adolescents (9).

The evaluation of food habits included the number of daily meals, self-perception of chewing quality, drinking liquids during meals and characteristics of school meals (packed lunch, purchased or not eaten).

As soon as students returned the questionnaire, it was checked for data consistency. After verifying all questionnaires, students' anthropometric data were measured by two properly trained nutrition faculty members from the Federal University of Minas Gerais.

The anthropometric evaluation consisted of measuring weight and height to obtain BMI, according to techniques described in the literature (10). This index was classified according to students' age and sex, adopting growth curves published by the WHO (11).

Television exposure and eating behaviour in relation to food advertising

Television exposure and eating behaviour in relation to food advertising was evaluated by applying another self-administered and self-explanatory questionnaire. This questionnaire included questions about habits of television-watching, time (in hours) spent in this activity and food intake concomitant with this practice.

Additionally, the questionnaire included questions about the habit of acquiring food advertised on television and, if applicable, the main types of products purchased. Finally, the attraction to a new food product advertised on television and this acquisition were also investigated by this study.

Data analysis

Food frequency consumption reported by the child or adolescent was transformed to units of daily frequency to obtain the probability of consumption of a

given food type in one day. For example, if the respondent reported a food frequency consumption of twice a week, this measure was converted into 0.29 (two divided by seven), representing a 29% chance of consuming this product in a day. Similar transformations were conducted for weekly and monthly frequencies, keeping the ratings rare or non-ingestion (option "never") intact. For those individuals who consumed fruit daily, regardless of the amount, a 100% probability of consumption was adopted.

Statistical analysis included Pearson and Spearman correlations, simple Student's t-test, ANOVA, the Mann-Whitney test and the Kruskal-Wallis test. These analyses were performed using the Statistical Package for Social Sciences (SPSS) 15.0 for Windows, Student Version (2006). A significance level of 5% ($p < 0.05$) was adopted. The results were presented as the mean (standard deviation) for variables with normal distribution and as median (confidence interval - 95%) for others.

RESULTS

The sample consisted of 116 students (46.4% of all students invited), with the majority being females (67.2%), with a mean age of 11.6 (3.3) years. The table 1 presents all the other socio-demographic and economic conditions evaluated. The median of residents per household observed was 4.0 (CI 95%: 3.8-4.2) and there were a median of 2.0 (CI 95%: 2.1-2.6) televisions per household.

Physical activity was reported by 98.2% of children and adolescents, and in 74% of cases it took place in the school environment. In addition, students exercised 2.0 (95% CI: 2.3 to 2.7) times per week for 0.8 (95% CI: 1.0 to 1.3) hours at a time.

Regarding the anthropometric findings, 10.3% of the students were underweight, while 25.8% were overweight, and 12.9% were obese.

Food consumption data corroborate anthropometric inadequacy, with 33.6% of students referring chewing food poorly, 87.6% drinking liquids during meals (250.0 mL, 95% CI: 212.1 to 256.9) and 66.4% consuming food while watching television. Moreover, there was a daily median number of 4.0 (95% CI: 3.9 to 4.4) meals.

As for feeding fractionation, 21.4% of students said they did not eat meals at school, which corresponds to

more than four hours of fasting. Among the students remaining, 26.8% reported buying a snack at the school canteen, and 48.1% brought meals from home.

An analysis of food consumption frequency revealed a higher probability of daily consumption of sweets, candies and chocolates compared to those observed for vegetables. It is notable that there were a percentage of students who never consumed vegetables and fruits, but there was no such category for the consumption of sweets, candies and chocolates, ice cream or sandwiches (Table 2).

Watching television was practiced by the students for a median of 3.0 (95% CI: 2.9 to 3.6) hours per day. Additionally, 46.9% of children and adolescents reported obtaining foods advertised in the television media, and 54.9% were attracted by new products they had seen advertised. As a result, 25% reported buying food, and there was a statistically significant association ($p < 0.001$) between being attracted to a product and purchasing it.

Analysis of the influence of food television advertising on the eating behaviour and nutritional status of the students showed a positive relationship between the total number of hours spent watching television and body weight ($r = 0.246$, $p = 0.015$) and the amount of liquid ingested during meals ($r = 0.277$, $p = 0.013$) (Table 3).

A positive relationship between the number of televisions per household and the probability of daily consumption of both artificial juice ($r = 0.277$, $p = 0.029$) and beans ($r = 0.246$, $p = 0.027$) was also found (Table 3).

Moreover, we found that children and adolescents who have the habit of eating while watching television were less likely to consume fruits daily - 60% of students who had this practice presented a 50 to 100% probability of consuming fruits daily, whereas in students who did not have this habit, the percentage was 74.3% ($p = 0.032$). In contrast, the consumption of artificial juices was more frequent for students who ate while watching television - it was found that 45.7% of children and adolescents who did not watch television while eating consumed artificial juices rarely, in comparison with 30% who had this habit ($p = 0.039$).

With respect to food acquisition through television advertising, those students who had this habit were more likely (50 to 100%) to consume ice cream daily in relation to others: 10.2% versus 3.6%, respectively ($p = 0.033$).

DISCUSSION

Among the results of the study, there was a high prevalence of habitual television watching and a long duration of this practice in a given day. Nutritional di-

TABLE 2
Probability of daily food consumption of children and adolescents from a private school in Brazil in 2009.

Food	Probability of daily food consumption					
	100-75,1%	75-50,1%	50-25,1%	≤25%	Rarely	Never
Green vegetables	31.7	7.7	13.5	23.1	14.4	9.6
Other vegetables	36.3	4.9	11.8	28.4	10.8	7.8
Fruits	60.4	4.7	7.5	20.8	4.7	1.9
Milk	70.7	2.0	2.9	13.7	2.9	7.8
Dairy products	48.5	6.1	10.1	24.2	8.1	3.0
Beans	70.3	2.0	5.9	11.9	6.9	3.0
Processed meats	8.9	3.0	9.9	48.5	26.7	3.0
Sweets, candies and chocolates	42.3	1.9	12.5	33.7	9.6	0.0
Ice cream	5.8	1.0	6.7	69.2	17.3	0.0
Fried food	17.3	4.8	17.3	48.1	11.5	1.0
Sandwiches	2.8	1.0	2.8	60.4	33.0	0.0
Regular soft drinks	20.1	5.8	18.3	41.3	8.7	5.8
Natural juice	27.9	1.9	11.5	40.4	12.5	5.8
Artificial juice	28.6	5.7	6.7	23.8	25.7	9.5

sorders and poor eating habits were also found in the sample, which related to television exposure and food advertising influence. These findings suggest the need for intervention, which should be directed towards improving the control of television advertising and reducing the exposure of children and adolescents to television.

This study describes the important role that television exerts in the daily lives of Brazilian people, as a 1:2 relationship was identified between the number of televisions and the number of residents. Moreover, the median number of hours spent watching television we observed, although similar to that seen in other studies (5,12), was considered elevated according to recommendations for Brazil's population (13).

It is noteworthy that this study also found a positive relationship between time spent watching television and body weight. Weels et al. (14) previously reported similar evidence in a cohort study conducted with 4,452 adolescents aged 10 to 12 years in Pelotas, Bra-

zil. However, in their study these authors observed a contribution of television exposure on increases in body fat and blood pressure (14).

The prevalence of nutritional disorders in the sample exceeded the data verified for the Brazilian population aged 10 to 19 years (15). One possible explanation for the high prevalence of nutritional disorders among children and adolescents under study is their inadequate food intake, as evidenced by the practice of unhealthy eating habits. We found inadequate fractionation of feeding with omission of meals, which results in lower consumption of healthy foods (16). Furthermore, drinking liquids during meals and chewing food improperly can promote excessive weight gain because of a reduced stimulation of satiety central controls (16,17).

Regarding this last habit, drinking liquid during meals, students who spent longer periods per day watching television also showed a higher intake of liquid on these occasions. One possible explanation for this

TABLE 3
Relation between food advertising and television exposure and eating behavior and nutritional status of children and adolescents from a private school in Brazil in 2009.

Variables	Hours spent watching television		Number of televisions	
	r	p-value	r	p-value
Anthropometric variables				
Weight	0.246	0.015*	0.101	0.310
Height	0.191	0.061	0.098	0.326
Body Mass Index	0.156	0.127	0.086	0.385
Number of daily meals	-0.113	0.282	-0.101	0.327
Liquid ingested during meals	0.277	0.013*	0.190	0.080
Probability of daily food consumption				
Green vegetables	-0.171	0.177	0.205	0.082
Other vegetables	0.030	0.809	0.065	0.579
Fruits	-0.106	0.330	0.013	0.906
Milk	-0.15	0.194	-0.057	0.612
Dairy products	0.033	0.777	0.098	0.394
Beans	-0.018	0.876	0.246	0.027*
Processed meats	0.059	0.652	-0.038	0.769
Sweets, candies and chocolates	0.077	0.498	0.105	0.336
Ice cream	-0.181	0.122	0.071	0.545
Fried food	0.034	0.766	0.074	0.514
Sandwiches	-0.100	0.439	0.099	0.443
Regular soft drinks	-0.137	0.240	0.066	0.563
Natural juice	-0.054	0.641	0.003	0.98
Artificial juice	0.230	0.094	0.277	0.029*

*p<0.05

relationship might be frequent student exposure to scenes of children and adolescents drinking beverages during meals in cartoon food advertisements and other television program commercials.

Another important habit observed in this sample is eating while watching television. A study conducted with 4,746 teenagers attending American public schools observed that children who ate while watching television had a lower intake of vegetables in general, especially dark green and yellow vegetables, grains and products high in calcium; this habit was also associated with higher consumption of regular soft drinks compared to those children who did not watch television while eating(18). Similar findings were verified by this study with regard to this habit and the intake of fruit, artificial juices and ice cream.

However, the study found a relationship between bean consumption and the number of televisions per household. It may have been a function of the study design bias and the fact that beans constitute a major component of the Brazilian people's daily diet(9).

This study also pointed to the relationship between being exposed to advertisements of new products and purchasing them. In this sense, food industries have worked hard to attract consumers to the product long enough to hold their interest in acquiring it. The use of jingles is common in 35% of television food advertisements and in the commercials is associated with the use of 39% of cartoons and 42% of children consuming the product (19).

Facing these problems, the Brazilian Ministry of Health issued Resolution number 24, dated 15 June 2010, which laid down minimum requirements for supply, advertising, publicity, information and other related practices, that address the dissemination and trade promotion of food and beverages containing high amounts of sugar, saturated fat, trans fat, and sodium and low nutritional content (20).

In addition to this type of approach, there is another that has been undertaken by Escobar-Chaves et al.(21) with children's parents, aiming to reduce media exposure. Families of 202 children from six to nine years were recruited to participate in the study for a duration of six months; 101 families constituted the study group. Intervention consisted of a two-hour workshop and delivery of six letters bi-monthly. The intervention proposed to: 1) reduce the daily time spent watching television, 2) turn off the television when nobody is wat-

ching it, 3) not watch television during meals, 4) not have television in children's room; and 5) realize diversionary activities not related to media vehicles. Among the results, goals two, three and four were achieved to a greater extent among the intervention group.

Despite its limitations, such as an adopted study design, a reduced sample size (less than 50% of eligible individuals of the study), the use of self-applied questionnaires that was applied differently considering age group, and the lack of assessment of caloric intake and nutrients, this study describes the contribution of television exposure and food advertising to increased body weight and inappropriate eating habits among students in a private school in Brazil.

ACKNOWLEDGMENTS

This study was sponsored by the Pró-Reitoria de Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais. In addition, there is no conflict of interest in this study. Concerning the author's contribution, S.M.M Costa and P.M. Horta participated in data collection, database construction, statistical analysis, data discussion and writing of the article. L.C. Santos participated in project design, data collection coordination and article revision.

REFERENCES

1. Wang Y, Monteiro CA, Popkin BM. Trends of obesity and underweight in older children and adolescents in the United States, Brazil, China and Russia. *Am J Clin Nutr* 2002; 75: 971-7.
2. WHO – World Health Organization. Population-based prevention strategies for childhood obesity: report of a WHO forum and technical meeting. 40 p. 2009.
3. Lobstein T, Dobb S. Evidence of a possible link between obesogenic food advertising and child overweight. *Obes Rev* 2005; 6: 203-8.
4. Veerman JL, Van Beeck EF, Barendregt JJ, Mackenbach JP. By how much would limiting TV food advertising reduce childhood obesity? *Eur J Public Health* 2009; 19: 365-9.
5. Freisling H, Haas K, Elmadfa I. Mass media nutrition information sources and associations with fruit and vegetable consumption among adolescents. *Public Health Nutr* 2010; 13: 269-75.
6. Swinburn B, Sacks G, Lobstein T, Rigby N, Baur LA, Brownell KD, et al. The "Sydney Principles" for reducing the commercial promotion of foods and be-

- rages to children. *Public Health Nutr* 2008; 11: 881-6.
7. Marshall SJ, Gorely T, Biddle SJ. A descriptive epidemiology of screen-based media use in youth: a review and critique. *J Adolesc* 2006; 29: 333-49.
 8. Zimmerman FJ, Bell JF. Associations of television content type and obesity in children. *Am J Public Health* 2010; 100: 334-40.
 9. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Guia alimentar para a população brasileira: promovendo a alimentação saudável. 2008. 210 p.
 10. WHO - World Health Organization. Physical Status: The use and interpretation of anthropometry. Technical Report Series no. 854. 1995. 452 p.
 11. De Onis M, Onyango AW, Borghi E, Siyam A, Nishida C, Siekmann J. Development of a WHO growth reference for school-aged children and adolescents. *Bull World Health Organ* 2007; 85: 660-7.
 12. Patriarca A, Di Giuseppe G, Albano L, Marinelli P, Angellilo IF. Use of television, videogames and computer among children and adolescents in Italy. *BMC Public Health* 2009, 13: 139-48.
 13. Monteiro CA, Florindo AA, Claro RM, Moura EC. Validity of indicators of physical activity and sedentari-ness obtained by telephone survey. *Rev Saúde Pública* 2008, 42: 575-81.
 14. Wells JC, Hallal PC, Reichert FF, Menezes AM, Araújo CL, Victora CG. Sleep patterns and television view- ing in relation to obesity and blood pressure: evidence from an adolescent Brazilian birth cohort. *Int J Obes* 2008; 32: 1042-9.
 15. Brasil. Ministério do Planejamento, Orçamento e Ges- tão. Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008-2009 – Antropometria e estado nutricional de crianças, ado- lescentes e adultos no Brasil. 2010. 130 p.
 16. Chen L, Appel LJ, Loria C, Lin PH, Champagne CM, Elmer Pj, et al. Reduction in consumption of sugar- sweetened beverages is associated with weight loss: the PREMIER trial. *Am J Clin Nutr* 2009; 89: 1299- 306.
 17. Kontogianni MD, Farmaki AE, Vidra N, Sofrona S, Magkanari F, Yannakoulia M. Associations between lifestyle patterns and body mass index in a sample of Greek children and adolescents. *J Am Diet Assoc* 2010; 110: 215-21.
 18. Feldman S, Eisenberg ME, Neumark-Sztainer D, Story M. Associations between watching TV during family meals and dietary intake among adolescents. *J Nutr Educ Behav* 2007; 39: 257-63.
 19. Keller SK, Schulz PJ. Distorted food pyramid in kids programmes: a content analysis of television adverti- sing watched in Switzerland. *Eur J Public Health* 2011; 21:300-5.
 20. Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vi- gilância Sanitária. Resolução RDC nº24 de 15 de junho de 2010. 2010. Available at: <www.anvisa.gov.br>. Accessed August 2010.
 21. Escobar-Chaves SL, Markham CM, Addy RC, Grei- singer A, Murray NG, Brehm B. The Fun Families Study: intervention to reduce children's TV viewing. *Obesity* 2010; 18: 99-101.

Recibido: 18-11-2011

Aceptado: 10-04-2012

Evaluación de una intervención en educación alimentaria y actividad física para prevenir obesidad infantil en escuelas públicas de Santiago de Chile.

Juliana Kain, Bárbara Leyton, Fernando Concha, Gerardo Weisstaub, Luz Lobos, Nelly Bustos, Fernando Vio

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

RESUMEN. El objetivo de este estudio fue evaluar una intervención en educación nutricional y actividad física para prevenir obesidad en escolares chilenos, mediante seguimiento longitudinal de tres años. La muestra incluyó 597 niños de 4 a 7 años asistentes a 7 escuelas públicas de una comuna de bajo nivel socioeconómico de Santiago. Los principales aspectos de la intervención fueron: capacitación de profesores para que apliquen un programa de educación nutricional, aumento de las clases de educación física de 3 a 4 sesiones semanales y mejoría de su calidad. Se midió: Peso (P), Talla (T), circunferencia de cintura (CC) y test de caminata de 6 minutos (TM6). Se calculó IMC, Z IMC, % de escolares normales (N), sobrepeso (SP) y obesos (OB), CC > percentil 90 (NHANES III) y condición física (T6M/talla). Se evaluaron los cambios anuales de Z IMC, CC, TM6 y TM6/talla usando el test de repeticiones de ANOVA y el test de proporciones. Se evaluaron cambios en conocimientos sobre alimentación saludable en 2 de los 3 años. Los resultados mostraron que el porcentaje de obesidad (17%) no cambió los primeros dos años, sin embargo aumentó el tercer año a un 19,3%; Z IMC aumentó de 0,3 a 0,38 ($p=0,052$) en los N, sin cambio en SP y disminuyendo significativamente en los OB (2,73 a 2,41 $p<0,0001$). % CC >percentil 90 disminuyó en los SP y OB. El incremento en el TM6 fue mayor en los N. La condición física mejoró en todos los niños, pero fue significativo sólo en los N ($p=0,0002$). Hubo un aumento significativo en los conocimientos alimentarios. Se concluye que a pesar de una disminución en el Z IMC de los OB y una mejoría en la condición física de los N y de los conocimientos en todos los escolares, la obesidad aumentó al tercer año. Este estudio muestra que a nivel escolar es necesario implementar intervenciones más intensas y con otro tipo de metodologías, para impedir que la obesidad infantil continúe aumentando.

Palabras clave: Obesidad infantil, intervención en educación nutricional y actividad física, condición física

SUMMARY. Evaluation of an obesity prevention intervention which included nutrition education and physical activity applied in public schools of Santiago, Chile. The main objective of this study was to assess the effectiveness of an obesity prevention intervention which included nutrition education and physical activity applied to low income Chilean children in a longitudinal three-year follow-up study. Participants included all 4-7 year old children from 7 public schools located in a low socioeconomic district of Santiago. The main aspects of the intervention were: training of teachers so they could apply an educational program on healthy eating, increase in physical education classes from 3 to 4 per week, and improvement of their quality. Weight, height, waist circumference (WC) and the 6-minute walk distance (6MWD) were assessed yearly in 597 children. We calculated BMI, BMI Z, % normal (N), overweight (OW) and obesity (OB), WC > 90th percentile (NHANES III) and fitness (6MWD/ height). Annual changes in BMI Z, WC, 6MWD and fitness were assessed, using repeated measures ANOVA and the test of proportions. Knowledge in healthy eating was assessed during 2 of the 3 years. Results showed that % OB remained unchanged for 2 years (17%) but increased to 19.3 % at follow-up. BMI Z increased from 0.3 to 0.38 ($p=0.052$) in the N, remained unchanged in the OW, while decreasing significantly in the OB (2.73 to 2.41 $p<0.0001$). % WC > 90th percentile decreased in the OW and OB; 6 MWD was higher in the OW, but the increase in distance overtime was greater among the N. Overall fitness improved, however it was only significant among the N ($p=0.0002$). There was a significant increase in food knowledge. We conclude that in spite of a decrease in BMI Z of the OB, an improvement in fitness in the N and food knowledge in all the children, obesity increased at follow-up. This study shows that in school-based obesity programs it is necessary to apply more intense interventions with another type of methodology; otherwise this condition will continue to rise.

Key words: Childhood obesity, nutrition education and physical activity intervention. physical fitness

INTRODUCCIÓN

La obesidad infantil es un problema de salud pública a nivel mundial que está presente tanto en países desarrollados como en aquellos en vías de desarrollo. En Chile, la obesidad incrementó desde un 8% en 1987 a un 23% el 2010 en los niños de primer grado de escuelas públicas del país, que corresponden al 92% del total de las escuelas (1). Para enfrentar este problema a nivel de escuela, se han desarrollado diferentes iniciativas desde el Gobierno, bajo el alero de la Estrategia Global contra la Obesidad (2) y desde el sector privado a través de Acción Responsabilidad Social Empresarial con su programa NutriRSE (3). Sin embargo, las evaluaciones de ambas iniciativas han sido parciales (4), sin que existan evaluaciones de impacto en el estado nutricional de los niños.

En los años 2002-2004, investigadores del INTA, Universidad de Chile, realizaron un seguimiento de tres años a niños de 6 a 12 años en tres escuelas públicas intervenidas con educación nutricional y actividad física en una comuna semi-rural (Casablanca) y una escuela control en una ciudad cercana (Quillota), disminuyendo la obesidad inicial de un 17% a un 12% en niños y de un 14,2% a un 10,3% en niñas en las escuelas intervenidas, mientras que en la escuela control la obesidad aumentó (5).

Como continuación de esta intervención, se implementó un programa similar en todas las escuelas públicas de una comuna de nivel socioeconómico bajo, situada en la zona sur-oriente de Santiago, llamada Macul. Se incluyó a niños de 4 a 7 años, por la experiencia de Casablanca (6), que demostró un mayor impacto en la disminución de la obesidad en los niños de menor edad. En esta oportunidad, por ser un programa municipal que debía abarcar todas las escuelas de la comuna, no fue posible dejar una escuela control sin intervención. El objetivo de este artículo es evaluar una intervención en educación nutricional y actividad física en escolares de 4 a 7 años de nivel socioeconómico bajo para prevenir la obesidad, mediante seguimiento longitudinal de tres años, comparando indicadores de antropometría y actividad física de la línea de base con el final del primero, segundo y tercer año de la intervención.

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño del estudio

Este es un estudio donde se evaluó una intervención en educación nutricional y actividad física mediante seguimiento longitudinal en los mismos niños, con mediciones al inicio y final de cada año, siguiendo la metodología de la “evaluación por adecuación” para medir impacto en programas de salud pública, descrita por Habicht et al. (7).

Sujetos

Se seleccionaron a todos los niños de 4 a 7 años de los 7 colegios públicos de la comuna de Macul en los cursos de prekindergarten, kínder, primero y segundo grado. La muestra para este estudio incluyó 597 niños con todas las mediciones durante los 3 años, que equivale al 70,2% del total de niños medidos en abril del 2007. Las pérdidas se debieron a la ausencia de los niños en los días de las mediciones, al cambio de escuelas durante el período del estudio, y a la eliminación de 18 niños con bajo peso para el análisis. El nivel socioeconómico fue evaluado de acuerdo al “Índice de Vulnerabilidad Escolar” (IVE) del Ministerio de Educación, basado en variables socioeconómicas recolectadas por diferentes instituciones gubernamentales (8,9). En Macul, las 7 escuelas tenían un IVE similar de 75, lo que significaba que el 75% de los niños eran pobres y requerían de asistencia alimentaria.

El protocolo de evaluación de la intervención fue aprobado por el Departamento de Educación de la Comuna de Macul, el cual quedó establecido como parte de las evaluaciones rutinarias que realizan de los programas educacionales de la comuna.

Intervención

a) Educación Nutricional: los profesores de los 4 niveles (1° a 4° grado) fueron entrenados durante 9 horas al inicio de los años 2007 y 2008 por una nutricionista contratada para el proyecto, con materiales educativos elaborados previamente por nuestro grupo de investigación (10) basados en los mensajes de las Guías Alimentarias Chilenas y con una lista de actividades para los niños (11). Estas actividades se aplicaron cada 15 días durante 1 hora en un horario definido por el profesor, no siendo parte del currículo regular. Además, durante los años 2007 y 2008, la

nutricionista realizó una visita mensual a cada profesor para supervisar la utilización de los materiales educativos en los niños.

- b) Actividad Física: se aumentaron las clases de educación física de 3 a 4 horas de 45 minutos cada una por semana. Además, se cambiaron los profesores generalistas, sin formación en educación física, por profesores especialistas contratados por la comuna para tal efecto. Esto se pudo hacer por una evaluación previa, que demostró que el tiempo de actividad moderada e intensa de los niños en las clases que hacían profesores no especialistas, era muy bajo (12). Con el fin de mejorar la calidad de las clases, los profesores de educación física utilizaron un material educativo que tiene como objetivo principal, planificar en mejor forma los elementos insertos en el currículo regular de la asignatura, que favorecen actividades que demandan un mayor gasto energético (13).

Variables

Antropometría Peso, Talla y Circunferencia de Cintura. Los niños fueron seguidos durante tres años (línea de base en abril 2007 o A0), y al término de cada año escolar (noviembre 2007, 2008 y 2009 o A1, A2, A3, respectivamente) en peso (P), talla (T), circunferencia de cintura (CC) y distancia caminada durante 6 minutos. El peso fue medido con ropa liviana y sin zapatos en una balanza digital fabricada en Chile (Pesatronic EFIP-1803030-21) con un estadiómetro incorporado para medir la talla (precisión de 50 g y 0,1 cm, respectivamente). La CC se usa para medir grasa visceral (14) con una cinta inelástica SECA a nivel del ombligo.

Todas las medidas antropométricas fueron efectuadas y registradas por dos nutricionistas entrenadas y estandarizadas que hicieron dos mediciones cada una. La confiabilidad intra e inter observador de las mediciones de P, T y CC fueron confirmadas (correlación intra-clases > 0,75).

Conocimientos sobre Alimentación Saludable. Se aplicó en abril del 2008 a los alumnos de 1° a 4° grado una encuesta diagnóstica validada de 8 preguntas sobre la importancia y consumo recomendado de cada uno de los alimentos saludables. Este instrumento se aplicó nuevamente a los mismos niños que cursaban 2° a 4° grado en el 2009 (15).

Condición Física. El test de caminata de 6 minutos

(T6M) es una prueba de condición física sub-máxima para determinar capacidad aeróbica en los niños. El niño camina lo más rápido posible durante 6 minutos en una superficie plana usando un espacio de 30 metros, de acuerdo a la guía American Thoracic Society o ATS (16). Aún cuando esta prueba se utiliza frecuentemente en pacientes con problemas cardíacos o pulmonares, se está utilizando cada vez más para medir la capacidad aeróbica en niños sanos (16,17). La distancia recorrida en 6 minutos fue registrada por dos profesores de educación física, especialmente entrenados y estandarizados para administrar la prueba.

Análisis de Datos

a) Antropometría

Tanto en la línea base como al final de cada año de intervención, se calculó el IMC (P/T²) y el puntaje Z del IMC (Z IMC) con la referencia OMS 2006 para 0 a 5 años (18) y la referencia OMS 2007 para 5 a 19 años (19). Los puntos de corte para clasificar a los niños fueron bajo peso (Z IMC Z <1); normal o N (Z IMC >-1 <+1); sobrepeso o SP (Z IMC >+1 ≤ +2) y obeso o OB Z IMC > +2). Hubo 18 niños con bajo peso (2,9%) que decidimos eliminar para que el análisis se realizara sólo con aquellos niños pertenecientes a las 3 categorías de estado nutricional: normales (N), sobrepeso (SP) y obesos (OB). La muestra final quedó en 597 niños. También se determinó la proporción de niños con CC > del percentilo 90 de NHANES III por edad y sexo (20).

b) Cambio en el Nivel de Conocimientos sobre Alimentación Saludable

Se determinó durante 2008 y 2009 comparando el % de respuestas correctas obtenidas en cada una de las 8 preguntas, usando el test de Mc Nemar de proporciones correlacionadas.

c) Test de caminata de 6 minutos (T6M)

Además de registrar el T6M, se calculó un índice resultante de dividir los metros caminados (m) por la talla (t). Este índice T6M/t se construyó porque se ha demostrado que la distancia caminada aumenta con el crecimiento, siendo la talla la variable que mejor se correlaciona con los resultados de esta prueba (21). Además, al ser este índice estandarizado, permite hacer comparaciones de resultados de condición física en el tiempo.

Se determinó si hubo diferencias significativas por sexo para cada una de las variables antropométricas y de condición física en A0, A1, A2 y A3 utilizando la prueba t de student, mientras que para comparar los porcentajes de obesidad y de CC >percentil 90 se usaron las pruebas de proporciones de una muestra (1 cola) (Tabla 1).

Se analizó si el Z IMC, T6M y el índice T6M/t cambiaban en forma significativa en A1, A2, A3, cada uno con respecto a la línea de base. El análisis fue realizado para cada categoría nutricional y entre las categorías con medidas repetidas de ANOVA. Se usó la prueba de Tukey para la comparación de los grupos dentro de cada período, considerando $p < 0,05$ como significativo.

TABLA 1
Características Antropométricas de la Muestra según Sexo (2007 - 2009)*

Variabes	A ₀	A ₁	A ₂	A ₃
Edad (años)				
Total (N=597)	6,4 (1,1)	7,1 (1,1)	7,9 (1,1)	8,9 (1,1)
Hombres (N=327)	6,5 (1)	7,1 (1)	8,0 (1)	9 (1)
Mujeres (N=320)	6,4 (1)	7,0 (1)	7,9 (1)	8,9 (1)
Peso (kg)				
Total	24,1 (5,3)	25,9 (5,8)	29,0 (6,8)	32,8 (7,9)
Hombres	24,1 (5,1)	25,9 (5,5)	28,8 (6,3)	32,4 (7,4)
Mujeres	24,1 (5,6)	26,0 (6,2)	29,2 (7,4)	33,3 (8,3)
Talla (cm)				
Total	117 (7,7)	120,9 (7,8)	126,4 (7,8)	132,4 (7,9)
Hombres	118 (7,6)	121,2 (7,8)	127,1 (7,7)	132,4 (7,7)
Mujeres	116 (7,8)	120,5 (7,8)	126,3 (7,9)	132,4 (8,8)
Z IMC				
Total	0,98 (1,1)	0,98 (1,1)	0,92 (1,1)	0,96 (1,1)
Hombres	0,97 (1,1)	0,98 (1,1) ^a	0,90 (1,1) ^a	0,93 (1) ^a
Mujeres	0,98 (1)	0,90 (1)	0,94 (1)	1,0 (1)
% Obesidad				
Total	17,1	17,5	17,6	19,3
Hombres	17,3	18,6	18,5	19,6 ^b
Mujeres	16,9	16,2	16,7	19,0 ^b
% CC > p 90				
Total	10,2	8,8	sin dato	8
Hombres	8,9 ^a	6,2 ^a	sin dato	6,2 ^{a, b}
Mujeres	11,8	12	sin dato	10
T6 M				
Total	535,1 (68)	551,7 (62)	579,5 (55)	613,7 (56) ^b
Hombres	540,6 (73) ^a	555,8 (63) ^a	583,3 (55) ^a	620,4 (57) ^{a, b}
Mujeres	528,8 (64)	547,0 (59)	575,3 (54)	606,1 (54) ^b
Índice T6M/talla (m)				
Total	454 (40)	450 (41)	458 (41)	463 (40) ^b
Hombres	456 (50)	458 (51)	460 (48)	470 (47) ^b
Mujeres	452 (42)	455 (43)	462 (42)	461 (43) ^b

A₀ corresponde a abril 2007 A₁ A₂ y A₃ corresponden a noviembre 2007, 2008 y 2009 respectivamente.

* Promedios (DE); a= diferencias significativas según sexo según prueba t ($p < 0,05$); b= diferencias significativas entre la línea base y el final del 3er año según prueba t ($p < 0,05$)

También se determinó el cambio en la proporción de los niños con $CC > p 90$ dentro de cada grupo (Tabla 2.). Todos los análisis estadísticos se realizaron con SAS (SAS 8.2, SAS Institute, Texas, USA).

TABLA 2
Evolución del % de Niños con Circunferencia de Cintura $> P 90$ según estadonutricional en la línea de base ^a

Estado Nutricional	Línea de Base Abr-07	Nov-07	Nov-09
Normal	0	0	0
Sobrepeso	4,8	2,1	2,7
Obeso	51,8	47,5	39,5

a = Percentil 90 CC según NHANES III

RESULTADOS

La Tabla 1 muestra la evolución de la antropometría y condición física de 597 niños. En A0, el promedio de Z IMC fue muy alto, casi en el punto de corte del sobrepeso; hubo una disminución en A2 ($p=0,015$) y un aumento significativo en A3 ($p=0,002$), con diferencias por sexo; en las niñas disminuyó significativamente en A1 y A2, y en los niños sólo en A2. En ambos sexos Z IMC aumentó en A3. La prevalencia de obesidad fue alta en A0 (17%), sin cambiar en los dos años siguientes, para luego aumentar en A3 en 2 puntos porcentuales en ambos sexos.

La proporción de niños con una $CC > p 90$ fue mayor en niñas; en los niños, este porcentaje disminuyó de 8,9% a 6,2%, sin cambios en las niñas. Sólo se encontró diferencia significativa por sexo en A1 ($p=0,002$). Como era de esperar, los valores de T6M aumentaron con el tiempo y fue mayor en niños. Hubo diferencias significativas por sexo en la línea de base y A3.

Tanto T6M como la condición física (T6M/t) cambiaron en el tiempo; T6M aumentó significativamente ($p < 0,0001$) en todos los períodos, mientras que el índice aumentó significativamente en A3 ($p=0,0008$).

La comparación de respuestas correctas en cada una de las 8 preguntas sobre alimentos saludables reveló cambios significativos en todos los temas.

La Figura 1 muestra los cambios en Z IMC, según estado nutricional en la línea de base. Para el grupo N, el promedio Z IMC permaneció estable en 0,3 en los primeros dos años, aumentando a 0,38 en el último año

($p=0,05$). En los SP, el Z IMC disminuyó significativamente en A2 ($p=0,005$), mientras en los obesos el Z IMC disminuyó en forma continua de 2,73 a 2,41 hasta el A3 ($p < 0,0001$ en todos los períodos)

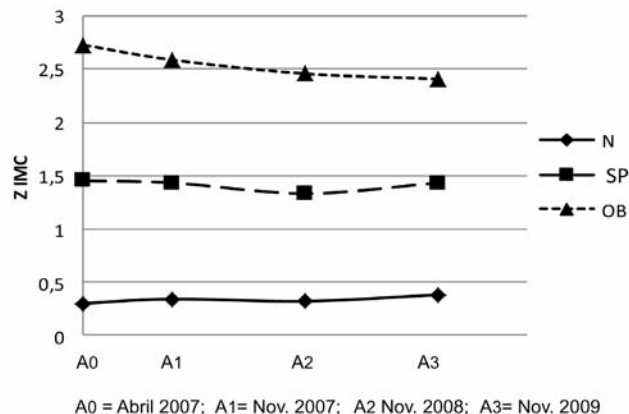


FIGURA 1
Evolución del zinc (2007-2009)

La Tabla 2 muestra que en el grupo N, el porcentaje de niños con $CC > p 90$ quedó en 0, mientras que en los SP y OB, esta proporción disminuyó en el seguimiento, pero no en forma significativa.

Las Figuras 2 y 3 muestran los cambios en el tiempo en el T6M y la condición física determinada a través del índice T6M/t según estado nutricional, respectivamente. La Figura 2 muestra que en el grupo N, el promedio de T6M aumentó 91 m en los tres años. En el grupo SP los promedios fueron mayores que en los N, pero el aumento en el tiempo fue menor (73 m). En los OB, los valores fueron similares a los del grupo N durante el primer año, pero menores durante el segundo y tercer año. Esta variable aumentó significativamente en todos los grupos y en los tres años, excepto en el grupo SP en A1, donde el cambio no fue significativo.

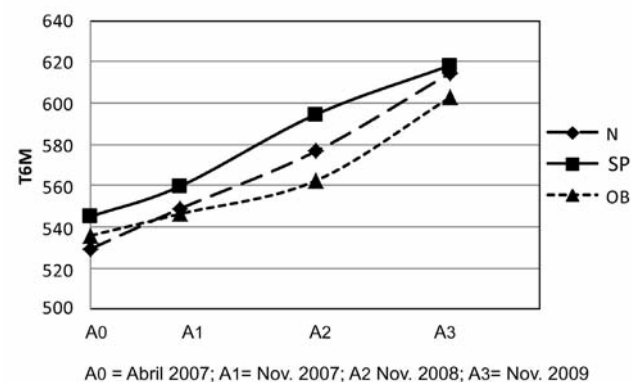


FIGURA 2
Test de caminata de 6 mins (2007-2009)

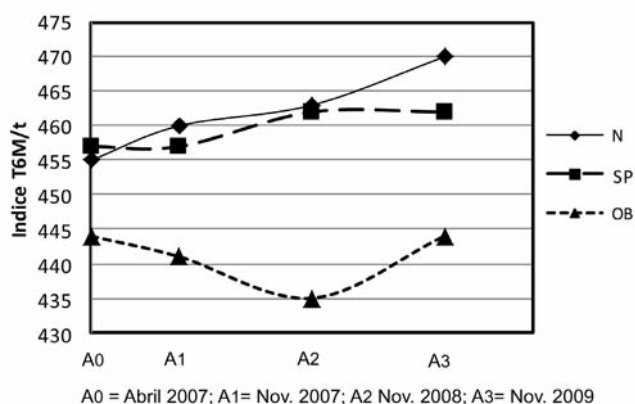


FIGURA 3
Evolución de la condición física
(2007-2009)*

Respecto a la variación de la condición física medida por el índice T6M/t en cada grupo, la Figura 3 muestra que en los N hubo una mejoría significativa sólo cuando se considera el cambio entre el final del tercer año y la línea de base ($p=0,0002$). El grupo SP no mejoró significativamente en el tiempo, mientras que en el grupo OB, la condición física no cambió. Cuando se analizó el cambio en la condición física en los niños que inicialmente eran SP y llegaron a ser OB, comparados con los que permanecieron obesos durante los tres años, se observó que la condición física disminuyó en los desarrollaron obesidad en la medición final, permaneciendo sin cambios en los obesos permanentes, aún cuando en estos últimos, su Z IMC disminuyó, al igual que la proporción con una alta CC.

DISCUSION

Los resultados de este estudio mostraron que el Z IMC disminuyó en forma significativa el segundo año de intervención, sin embargo aumentó en el tercer año de seguimiento. La comparación del Z IMC al término del tercer año, con respecto a los valores de la línea de base por estado nutricional, mostró que esta variable disminuyó significativamente en los niños obesos, aumentando en los niños de peso normal.

El aumento significativo en la prevalencia de la obesidad entre los años 2008 y 2009 coincide con lo que sucedió en todo el país, registrado por los datos anuales de peso y talla que se miden al inicio del año escolar por la Junta Nacional de Alimentación y Becas (JUNAEB) en niños de 4 a 6 años que asisten a las escuelas públicas. En una muestra de más de 7000 niños

de 4 años el 2007 seguidos hasta los 6 años el 2009, analizados por JUNAEB en conjunto con el INTA, se observó una disminución de la obesidad del 2007 al 2008 y un aumento de 2 puntos porcentuales el 2009 (datos no publicados). Este incremento coincide con la crisis económica del 2008-2009, en la cual el Producto Interno Bruto disminuyó en un 2,5% el 2009, en relación con el año anterior; el desempleo aumentó de un 7,2% el 2008, a un 10,5% durante el 2009 y el precio de los alimentos subió en un 30% ese mismo año, en un porcentaje mucho mayor que la inflación (21). Esta situación económica adversa pudo haber influido en las familias más pobres, que concentran la compra de alimentos en aquellos de menor precio y mayor densidad energética.

En este estudio se observó una mejoría en la distancia recorrida en los 3 grupos a través del tiempo, resultado que es natural, ya que los niños al ir creciendo son capaces de dar el paso más largo y por tanto aumentar la distancia. En este caso, los niños con sobrepeso recorrieron más distancia, pero los normales tuvieron el mayor aumento en el tiempo y fue sólo en este grupo que la condición física mejoró significativamente, a pesar de que aumentó su promedio de Z IMC. Aún cuando no podemos demostrarlo, pensamos que en estos niños, podría haberse producido un mayor aumento en la masa muscular.

El T6M es muy adecuado para ser aplicado en niños de 4 a 7 años en escuelas, por su bajo costo y facilidad para implementar y medir (22). En niños, correlaciona bien con el consumo de oxígeno estimado por la prueba del "treadmill exercise stress" publicado por Limsuyan (25). Como cualquier prueba de condición física, ésta se puede ver afectada por la falta de motivación de los niños, lo cual fue considerado al hacer la prueba, estimulando permanentemente a los niños para que caminaran en forma continua lo más rápido posible.

Los resultados de esta prueba en niños chilenos y de la misma edad, en otros países, han sido variables. En un estudio realizado en Santiago de Chile el año 2001 (24) en 102 niños de ambos sexos de 6 a 8 años, sus resultados fueron similares a los observados en nuestra muestra a los 7 años. Sin embargo, estos últimos fueron 7 cm más altos y la prueba de los 6 minutos fue 652,8 y 650 m para niños y niñas, respectivamente, es decir, alrededor de 100 m más de lo que se obtuvo en este estudio. Aún cuando la posible explicación es que estos niños son más altos, sus pasos fueron más

largos, y consecuentemente, la distancia caminada fue mayor. Otros estudios que incluyen niños más altos han obtenido resultados semejantes a los nuestros, por ejemplo Geiger y cols (17) observaron que en niños de 6 a 8 años (66 niños y 46 niñas), los niños tenían en promedio el mismo peso, pero eran 10 cm más altos; mientras que las niñas tenían 0,8 kg más que las de nuestro estudio, pero medían 7,5 cm menos y su promedio del test de los 6 minutos fue de 584 y 578 m, respectivamente.

A pesar de que la evidencia indica que la variable que está más directamente correlacionada con la distancia recorrida es la talla (y no la edad), de todas las publicaciones que revisamos, sólo la de Li y cols. (25) presenta resultados según percentiles de talla. En ese estudio, que incluyó niños de 7 a 16 años encontraron una diferencia importante entre niños y niñas en T6M; los niños tenían un resultado significativamente mejor, probablemente por la mayor talla y masa muscular. Estos autores concluyen que la talla presentó la mejor correlación con la prueba de los 6 minutos. En resumen, estos estudios muestran que resultados de T6M en niños con edad, peso y talla similares han sido bastante diferentes. Las razones que pueden explicar estas diferencias pueden ser por la forma en que se toma la prueba, cómo se dan las instrucciones a los niños participantes y a la composición corporal.

En relación a los conocimientos sobre alimentación saludable, tal como ha sucedido en varios estudios, el aumento significativo de éste, no tuvo efecto sobre los índices de obesidad. (26,27).

A pesar de las limitaciones del estudio tales como no haber contado con un grupo control y no haber determinado la ingesta de alimentos, es necesario destacar que esta intervención fue realizada en las condiciones reales en que funcionan las escuelas públicas de comunas pobres de una ciudad grande, como es Santiago. Originalmente, se propuso una intervención más completa e intensa que integrara otros ámbitos que la que se pudo implementar; sin embargo, las condiciones no fueron propicias para ello. En Casablanca, por ser una comunidad pequeña, se lograron implementar mejor y más intensamente las actividades en las escuelas. Además, se incorporaron los padres y la comunidad en general en acciones tendientes a fomentar hábitos de vida saludables, tales como caminatas y cicletadas.

Una de las conclusiones más importantes de esta evaluación es que se requieren otras metodologías para

lograr impacto y eso implica realizar cambios importantes en el funcionamiento diario de las escuelas. Para ello se recomiendan, al menos, tres iniciativas que con apoyo de la comunidad escolar se pueden realizar: a) incorporar a los padres desde el inicio de las intervenciones, como lo han indicado numerosos estudios (28,29), ya que en Macul sólo un 30% de los padres asistían regularmente a las reuniones; b) eliminar los lugares de venta de comida envasada con alto contenido de grasa, azúcar y sal en las escuelas, o cambiar los productos que se venden por otros más saludables, siguiendo las recomendaciones de un estudio realizado por nuestro grupo (30), y c) incluir en el programa regular de estudio de los niños contenidos de educación en alimentación saludable, lo cual no ha sido posible en Chile, a pesar de numerosas propuestas en este sentido ante el Ministerio de Educación (17).

Queda como desafío el convencer a las autoridades de educación, directores de educación de las comunas y de las escuelas, de la necesidad de realizar intervenciones a nivel escolar significativamente más completas e intensas que incluyan además otras actividades, con el objeto de prevenir la obesidad infantil. Además, es necesario continuar evaluando el impacto e incluir grupos controles, aun cuando haya resistencia de parte de las autoridades.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a la Empresa Tresmontes Lucchetti por haber financiado este estudio.

REFERENCIAS

1. Junta Nacional de Auxilio Escolar y Becas (JUNAEB) www.junaeb.cl.
2. Estrategia Global contra la Obesidad (EGO-Chile) www.ego-chile.cl.
3. NutriRSE www.nutrirse.cl
4. Escuelas EGO http://ego-escuela.redsalud.gov.cl/url/page/ego_escuela/g_visualizacion/home.html
5. Kain J, Uauy R, Leyton B, Cerda R, Olivares S, Vio F. Efectividad de una intervención en educación alimentaria y actividad física para prevenir obesidad en Casablanca, Chile. *Rev Med Chile* 2008; 136: 22-30.
6. Kain J, Leyton B, Cerda R, Vio F, Uauy R. Two-year controlled effectiveness trial of a school-based intervention to prevent obesity in Chilean children. *Public Health Nutr.* 2009; 12 ; 1451-61.

7. Habicht JP, Victora C and Vaughan J. Evaluation designs for adequacy, plausibility and probability of public health programme performance and impact. *Int J Epidemiol* 1999; 28:10-18.
8. Evaluación y validación del sistema de asignación (SINAE) elaborado por JUNAEB. http://www.junaeb.cl/prontus_junaeb/site/artic/20100121/pags/20100121112705.html.
9. Ministerio de Educación de Chile: Metodología para clasificar escuelas de acuerdo a las condiciones socioeconómicas. 2008 http://www.mineduc.cl/biblio/documento/396_Construccion_de_grupos_comparables_de_establecimientos_SIMCE_2.pdf.
10. Guía y Manual de Alimentación para la Educación Parvularia. Eds. M Andrade y J Rojas. Elaborado como parte del Proyecto Intervención Comunitaria en Nutrición y Actividad Física en Párvulos. Santiago, 2006.
11. Bustos N, Benavides C. "Qué rico es comer sano!!" Libro preparado por INTA, U de Chile para enseñar alimentación saludable a niños entre 1er y 4to grado Santiago, Chile, 2010.
12. Kain J, Cerda R, Leyton B, Uauy R. On-site training to improve the quality of PE classes for 1st and 2nd grade Chilean schoolchildren. Presented at International Conference of Behavioural Nutrition and Physical Activity, Amsterdam, Holland, June 16, 2005.
13. Concha F. Moviéndonos por la Educación Física: Texto de Apoyo para el Primer Ciclo de la Enseñanza Básica" Santiago: INTA, 2007
14. Bassali R, Waller JL, Gower B, Allison J, Davis CL. Utility of waist circumference percentile for risk evaluation in obese children. *IJPO* 2010; 5: 97-101.
15. Olivares S, Moron C, Zacarias I, Andrade M, Vio F. Educación en nutrición en las escuelas básicas de Chile. *Food Nutr Agricult (FAO)* 2003; 33: 64-9.
16. ATS statement: guidelines for the six-minute walk test. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 166; 111- 17
17. Geiger R, Strasak A, Treml B, Gasser K, Kleinsasser A, Fischer V, Geiger H et al. Six-Minute Walk Test in Children and Adolescents. *J Pediatr* 2007; 150:395-99.
18. World Health Organization (WHO). The WHO Child Growth Standards 2006: <http://www.who.int/child-growth/standards/en/>
19. World Health Organization (WHO). The WHO 2007 SAS Macro Package. 2007. World Health Organization (WHO): Geneva, Switzerland.
20. Fernández J, Redden D, Pietrobelli A, Allison D. Waist circumference percentiles in nationally representative samples of African-American, European-American, and Mexican-American children and adolescents. *J Pediatr* 2004 ; 145 :439-44.
21. Chile: una economía en recesión 2009 <http://cienciaeconomica.blogspot.com/2009/06/chile-una-economia-latinoamericana-en.html>.
22. Lammers A, Hislop A, Flynn Y, Haworth S. The 6-minute walk test: normal values for children 4-11 years of age. *Arch Dis Child*. 2008; 93: 464-68.
23. Limsuwan A, Wongwandee R, Khowsathit P. Correlation between 6-min walk test and exercise stress test in healthy children. *Acta Pediatr* 2010; 99:438-41.
24. Escobar M, López A, Véliz C, Crisóstomo S, Pinochet R. Prueba de caminata de 6 minutos en niños Chilenos sanos. *Revista Oficial del Colegio de Kinesiólogos de Chile* 2001; 62: 16-20.
25. Li A, Yin J, Hung S, Tsang T, Wong E, Fok T, Ng P. Standard Reference for the Six-Minute-Walk Test in Healthy Children Aged 7 to 16 years. *Am J Respir Crit Care Med* 2007; 176: 174-80.
26. Francis M, Nichols S, Dalrymple N. The effects of a school-based intervention programme on dietary intakes and physical activity among primary-school children in Trinidad and Tobago. *Public Health Nutr*. 2010; 13:738-47.
27. Constante P, Locke K. Do school based food and nutrition policies improve diet and reduce obesity ? *Preventive Medicine* 2009; 48: 45-53
28. Livingstone M, McCaffrey T, Rennie K. Childhood obesity prevention studies: lessons learned and to be learned. *Public Health Nutr* 2006; 9: 1121-29.
29. Doak C, Visscher TL, Renders C, Renders C, Seidell J. The prevention of overweight and obesity in children and adolescents: a review of interventions and programmes. *Obesity Reviews* 2006; 7: 111-36.
- 30- Bustos N, Kain J, Leyton B, Olivares S, Vio F. Snacks consumidos habitualmente por escolares de escuelas públicas de Chile: motivaciones para su selección. *Rev Chil Nutr* 2010; 37: 178-83.

Recibido: 30-11-2011

Aceptado: 19-01-2012

Antimicrobial action of lactoferrin on *Staphylococcus aureus* inoculated in Minas frescal cheese

Alisson Santana Da Silva, Edson Renato Honjoya, Sibele Camilo Cardoso, Cíntia Hoch Batista De Souza, Marcela De Rezende Costa, Elsa Helena Walter De Santana, Lina Casale Aragon-Alegro

Universidade Norte do Paraná, UNOPAR, PR, Brasil. Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campo Grande, MS, Brasil.

SUMMARY. The effect of the addition of lactoferrin on *Staphylococcus aureus* to Minas frescal cheese was evaluated. Three cheeses were made: control (*S. aureus*), Lf-2% (2% lactoferrin + *S. aureus*) and Lf-4% (4% lactoferrin + *S. aureus*). Cheeses were packaged and *S. aureus* populations were determined on days 1, 8, 15, 22 and 29 of storage at 6°C. The experiment was repeated three times. *S. aureus* population increased 1.3 logarithmic cycles in the control cheese during storage, while it decreased to numbers below the detection limit in cheeses containing lactoferrin, over the same period. Moreover, antimicrobial effect showed to be dose-dependent.

Key words: Pathogenic microorganisms, antimicrobial activity, bioactive compounds.

RESUMO. Ação antimicrobiana de lactoferrina sobre *Staphylococcus aureus* inoculado em queijo Minas frescal. O efeito da adição de lactoferrina sobre a viabilidade de *Staphylococcus aureus* inoculado em queijo Minas frescal foi avaliado. Três queijos foram produzidos: controle (*S. aureus*), Lf-2% (2% lactoferrina + *S. aureus*) e Lf-4% (4% lactoferrina + *S. aureus*). Os queijos foram armazenados e as populações de *S. aureus* foram determinadas durante o armazenamento refrigerado a 6°C nos dias 1, 8, 15, 22 e 29. Os experimentos foram realizados em triplicata. As populações de *S. aureus* aumentaram 1,3 ciclos logarítmicos nos queijos controle durante o armazenamento, enquanto que essas populações foram reduzidas abaixo do limite de detecção nos queijos contendo lactoferrina no mesmo período. Além disso, observou-se que o efeito antimicrobiano foi dose-dependente.

Palavras-chave: Microorganismos patogênicos, atividade antimicrobiana, compostos bioativos.

INTRODUCTION

Minas frescal is a popular Brazilian unripened cheese made from cow's milk. Due to its high moisture content, low acidity and soft texture, it is susceptible to the development of bacteria that, in addition to limiting the shelf life of the product, may impose a health hazard to consumers, since pathogenic bacteria frequently associated with outbreaks of foodborne diseases, such as those caused by *Staphylococcus aureus*, which can easily contaminate and develop in this cheese (1).

Contamination of cheeses by *S. aureus* is mainly attributed to the use of raw milk in its manufacturing, or to defects and flaws during processing, principally during pasteurization, post-processing handling or along the distribution chain of the product (2). This microorganism, a ubiquitous pathogen, can cause human diseases like mastitis, toxic shock syndrome and staphylococcal food poisoning (3). In addition, resistant and multi-drug-resistant staphylococcal strains

have been isolated from humans and animals (4).

S. aureus in foods has become a major health threat to people all over the world due to its high transmissibility and virulence, increasing predominance over antibiotic-resistant bacteria, limited therapeutic options and wide distribution in both hospital and community settings (5). For that reason, alternatives must be developed by the industries to ensure the microbiological safety of the foods, and consequently, the health of the consumer.

Lactoferrin and its peptides are a promising class of antimicrobial compounds in the fight against pathogenic microorganisms, including *S. aureus*. Lactoferrin is a multifunctional iron-binding protein belonging to the transferrin family and is found in mammals, produced by the mammary glands, glandular tissue on mucosal surfaces and is also present in secretory granules of polymorphonuclear leukocytes (6).

Lactoferrin may have beneficial preventive and therapeutic effects on infections, inflammations, and

cancer, in addition to enhancing the iron status and the growth performance of vulnerable groups (7).

The bactericidal function of bovine lactoferrin is partially the result of the direct interaction between the positive charged regions with anionic molecules present on the surface of some microorganisms, which causes an increase in the membrane's permeability, inflicting damage to the bacteria (8).

According to Shimazaki (9), there are three models to explain the multi-functionality of lactoferrin. The first suggests that specific sites or fragments of the lactoferrin molecule constitute binding or active sites that enable lactoferrin to function. The second model involves lactoferrin binding and/or transferring various biological substances and behaving in a cooperative or competitive manner. And the last model suggests that lactoferrin induces or suppresses the production of chemical mediators to control immune cells on the intestinal epithelium, thereby affecting tissues or organs apart from the digestive tract.

Thus, the objective of this study was to evaluate the action of two different concentrations of lactoferrin on *Staphylococcus aureus* added to Minas frescal cheese, with the aim of exploring the protective potential of lactoferrin - a natural component of milk - to inhibit the growth of pathogenic microorganisms in foods.

MATERIALS AND METHODS

Preparation of microbial culture

The *Staphylococcus aureus* strain, obtained from the Food Microbiology Lab of the Faculty of Pharmaceutical Sciences, University of Sao Paulo, Brazil, was grown in brain heart infusion broth (BHI) and incubated at 37°C. After 24 h, the broth was centrifuged at 1050 x g for 15 minutes at 4°C, washed with 0.85% (w/v) saline solution, aliquoted in 1 mL portions and kept frozen at -80°C with 25% (v/v) glycerol. Each 1 mL portion contained approximately 5×10^2 cfu.mL⁻¹.

Manufacturing of Minas frescal cheeses

The fat content of whole pasteurized milk was standardized to 3% by adding pasteurized skimmed milk, subsequently heated to 35°C and added with 50% calcium chloride (0.25 mL L⁻¹), lactic acid 85% (0.25 mL L⁻¹) and rennet (1:10 dilution in distilled water). After 30 minutes, curdling was verified and the clot was cut and left to stand for five minutes. Next, part of the whey was drained off, followed by the addition of salt

and (10 g L⁻¹) and an additional holding time of two minutes. After another additional round of draining off part of the whey, the cut curd was inoculated with a population of 5×10^2 CFU mL⁻¹ *Staphylococcus aureus* and divided into three equal parts, with lactoferrin (0.2 g/100 g curd and 0.4 g/100 g curd) being added to two of these parts. After molding, the cheese curds turned and stacked three times at 15 minute-intervals. After a period of 12 hours cold storage at 6°C, the cheeses were released from the molds and cut up into 25 g-portions, which were immediately vacuum-packed into polyethylene packages and stored at 6°C. The entire experiment was repeated three times.

Enumeration of *Staphylococcus aureus*

On days 1, 8, 15, 22 and 29 of storage, the *Staphylococcus aureus* populations contained in the Minas frescal cheeses were enumerated according to official methods (10). On each day of analysis, sample portions each weighing 25 g were homogenized with 225 mL of a sterile saline solution (0.85%) in appropriate plastic bags. From this initial dilution, a series of decimal dilutions was prepared using the same diluent. Aliquots of 0.1 mL of the dilutions were seeded onto Petri plates containing Baird-Parker Agar supplemented with potassium tellurite and an egg yolk solution and subsequently incubated at 35°C. After 48 hours, typical colonies (black-colored, with or without a halo) were counted and the population calculated and expressed as Colony Forming Units (CFU) per gram of cheese. A total of five suspected colonies from each plate was subjected to the catalase and coagulase tests for confirmation.

pH determination

After 1, 8, 15, 22 and 29 days of storage, the pH of the cheeses was determined according to the procedures of the American Association of Official Agricultural Chemists (11).

Data analysis

The effect of the addition of lactoferrin the pH and *S. aureus* population of Minas frescal cheese throughout the shelf life investigated was evaluated by analysis of variance (ANOVA) using the Statistica software program (12).

RESULTS

The initial mean pH values of the cheeses were 6.44, for the control cheese, 6.42 for the cheese added

with 2% lactoferrin, and 6.40 for the cheese containing 4% lactoferrin (Figure 1).

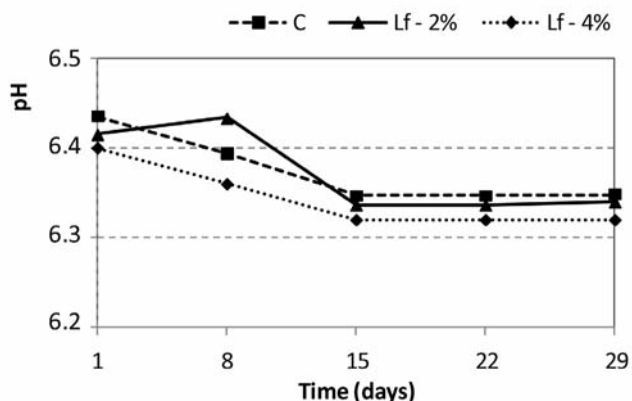


FIGURE 1.

Mean pH values observed in Minas frescal control cheese and cheeses treated with lactoferrin, during the 29 days of storage under refrigeration. C = control cheese; Lf-2% = cheese with 2% added lactoferrin; Lf-4% = cheese with 4% added lactoferrin.

The mean counts of the *S. aureus* populations of the control cheese and the lactoferrin treatments in the course of the 29-day storage period investigated are presented in Figure 2. The initial population - approximately 2.5 log CFU g⁻¹ ($p > 0.05$) - was the same for all the formulations, which is the maximum population of coagulase-positive *Staphylococcus* per gram of very high moisture cheese allowed by the Brazilian food regulations currently in force (13).

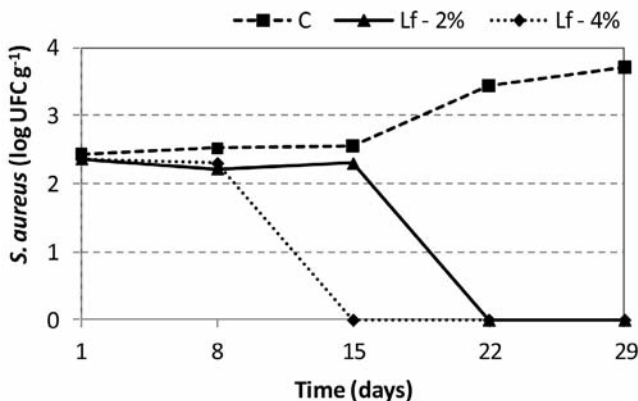


FIGURE 2.

Mean values of the *S. aureus* populations of the Minas frescal control cheese and the cheeses treated with lactoferrin, kept under cold storage for 29 days.

C = control cheese; Lf-2% = cheese with 2% added lactoferrin; Lf-4% = cheese with 4% added lactoferrin.

It was found that in the control cheese, the *S. aureus* populations remained constant up to 15 days of storage, verifying from that point in time onwards a statistically significant increase ($p < 0.05$) in the counts, greater than one logarithmic cycle (Figure 2). When added with lactoferrin, it was observed that this protein did not allow the multiplication of *S. aureus* during the storage period of the cheeses (Figure 2). At the concentration of 2%, it was verified that the population of *S. aureus* remained unchanged for 15 days ($p > 0.05$), declining significantly ($p < 0.05$) from that point in time onwards until it was no further detected by the method utilized up to the end of the storage period. When 4% lactoferrin was added, the *S. aureus* populations started to decline already after the 8th day.

DISCUSSION

According to Furtado (14), the initial pH of Minas frescal cheese produced with lactic acid varies between 6.3 and 6.5. These values may fall to pH 5.2 – 5.4 during shelf life, as a function of the degree of contamination and the overall conditions of the points of sale. It can be observed from Figure 1 that the pH of the control cheese and those treated with lactoferrin declined to the same extent and with a similar time course throughout the 29 days of refrigerated storage investigated ($p < 0.05$). The reduction was 0.09 for the control sample and 0.08 for the lactoferrin-added samples, with the pH values never falling to levels lower than 6.34. This drop in pH is probably due to the production of lactic acid during fermentation of lactose by bacteria (15). However, these values are not considered a limiting factor for the proliferation of *S. aureus*. According to Beresford et al (16), the optimal pH for the multiplication of most of the bacteria is close to neutral and their multiplication is impaired at values lower than 5.0.

Other authors found pH values similar to those observed in the present study when evaluating Minas frescal cheeses produced by direct acidification (17, 18). Cheeses acidified with lactic acid have higher pH values than those acidified with lactic starter culture. In Brazil, there is a trend towards partially or totally replacing lactic starter cultures by lactic acid in cheeses, although it is known that only the addition of lactic cultures ensures the permanent production of lactic acid and, consequently, lower pH values of the pro-

ducts during storage (19), which would help to control the development of spoilage and pathogenic bacteria that may be present in this food.

Regarding *S. aureus* populations, if we consider that the freshness or "best before" date estimated by the manufacturers of *Minas frescal* covers a period varying from 21 to 30 days, cheeses containing populations close to $2.5 \log \text{ UFC g}^{-1}$ when distributed to the retail establishments and which were released for sale by legislation may become a serious public health hazard.

In Brazil, the presence of *S. aureus* is relatively common in fresh, unripened cheeses, with populations well above the legally permitted levels.

Several authors have reported on *in vitro* antimicrobial activity of lactoferrin against pathogens (20, 21, 22, 23), but only a few evaluated this activity against *S. aureus* (5, 24).

At present, several natural antimicrobial compounds that prevent the development of spoilage and pathogenic microorganisms have been studied by the food industry, such as is the case of lactoferrin. One of the reasons for these investigations lies in the fact that the digestion of this protein by pepsin generates two fragments - lactoferricin and lactoferrampin - which are even more potent against bacteria, compared to the intact protein (5).

Furthermore, some *S. aureus* strains are known to be resistant to antimicrobials and the possibility to use lactoferrin to control them, by sequestering iron and limiting the use of this nutrient by pathogen (25) in food is interesting.

Murdock e Matthews (26) evaluated the antimicrobial activity of bovine lactoferrin hydrolysate with pepsin against *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes* in peptone yeast extract glucose broth and ultra-high temperature milk. The authors concluded that, under conditions of low pH and refrigeration temperatures, lactoferrin hydrolysate can limit or reduce the populations of pathogenic bacteria in a dairy product.

CONCLUSION

Lactoferrin prevented the increase of the *S. aureus* population in the cheeses, at the two concentrations tested, acting initially as a bacteriostatic when the cheeses were inoculated with a population of $5 \times 10^2 \text{ UFC g}^{-1}$ *S. aureus*. Furthermore, bactericidal action was observed after the 15th day of storage when lactoferrin

was added at a concentration of 2%, and after the 8th day at the concentration of 4%, which is interesting in view of the fact that this type of cheese has a short shelf life.

ACKNOWLEDGEMENTS

We would like to thank the Universidade Norte do Paraná (UNOPAR) and the Fundação Nacional de Desenvolvimento do Ensino Superior Particular (FUNADESP), for supplying the financial support that made this research project possible.

REFERENCES

1. Nascimento MS, Moreno I, Kuaye AY. Applicability of bacteriocin-producing *Lactobacillus plantarum*, *Enterococcus faecium* and *Lactococcus lactis ssp. lactis* as adjunct starter in Minas Frescal cheesemaking. *Int J Dairy Technol.* 2008; 61: 352-57.
2. Borges MF, Arcuri EF, Pereira JL, Feitosa T, Kuaye AY. *Staphylococcus* enterotoxigênicos em leite e produtos lácteos, suas enterotoxinas e genes associados: revisão. *Boletim CEPPA.* 2008; 26: 71-86.
3. Le Loir Y, Baron F, Gautier M. *Staphylococcus aureus* and food poisoning. *Genet Mol Res.* 2003; 2: 63-76.
4. Miller LG, Kaplan SL. *Staphylococcus aureus*: a community pathogen. *Infect Dis Clin N Am.* 2009; 23: 35-52.
5. Flores-Villaseñor H, Canizalez-Román A, Reyes-Lopez, KN, Garza M, Zazueta-Beltrán J, León-Sicairos N, Bolscher JGM. Bactericidal effect of bovine lactoferrin, LFcIn, LFampin and LFchimera on antibiotic-resistant *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Biometals.* 2010; 23: 569-78.
6. Lonnerdal B, Iyer S. Lactoferrin: molecular structure and biological function. *Annu Rev Nutr.* 1995; 15: 93-110.
7. Lonnerdal B. Nutritional roles of lactoferrin. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2009; 12: 293-97.
8. Haversen L, Kondor N, Baltzer L, Hanson LA, Dolphin GT, Duner K, Mattsby-Baltzer I. Structure-microbicidal activity relationship of synthetic fragments derived from the antibacterial alpha-helix of human lactoferrin. *Antimicrob Agents Ch.* 2010; 54: 418-25.
9. Shimazaki KI, Kushida T. A preliminary approach to creating an overview of lactoferrin multi-functionality utilizing a text mining method. *Biometals.* 2010; 23: 453-63.
10. Lancette G, Bennett RW. *Staphylococcus aureus* and Staphylococcal Enterotoxins. In: *Compendium of methods for the microbiological examination of foods.*

- American Public Health Association (APHA); 2001. p. 387-400.
11. Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis. 17th ed. Washington, DC: AOAC; 2003.
 12. Statsoft Inc. STATISTICA for Windows [Computer program manual], Tulsa, OK: StatSoft, Inc., 2000.
 13. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001, 2001.
 14. Furtado MM. Principais problemas dos queijos: causas e prevenção. São Paulo: Fonte Comunicações e Editora; 2005.
 15. Eskin MNA. Biochemistry of foods. London: Academic Press; 1990.
 16. Beresford TP, Fitzsimons NA, Brennan L, Cogan TM. Recent advances in cheese microbiology. *Int Dairy J*. 2001; 11: 259-74.
 17. Souza CHB, Saad SMI. Viability of *Lactobacillus acidophilus* La-5 added solely or in co-culture with a yoghurt starter culture and implications on physicochemical and related properties of Minas fresh cheese during storage. *Food Sci Technol*. 2009; 42: 633-40.
 18. Alves CCC. Comportamento da *Escherichia coli* em queijo minas Frescal elaborado com utilização de *Lactobacillus acidophilus* e de acidificação direta com ácido láctico. [Dissertação]. Rio de Janeiro: Universidade Federal Fluminense; 2010.
 19. Rocha JS, Buriti FCA, Saad SMI. Condições de processamento e comercialização de queijo-de-minas frescal. *Arq Bras Med Vet Zootec*. 2006; 58: 263-72.
 20. Oliveira IR, Araujo AN, Bao SN, Giugliano LG. Binding of lactoferrin and free secretory component to enterotoxigenic *Escherichia coli*. *FEMS Microbiol Lett*. 2001; 203: 29-33.
 21. Di Biase AM, Tinari A, Pietrantonio A, Antonini G, Valenti P, Conte MP, Superti F. Effect of bovine lactoferrin on enteropathogenic *Yersinia* adhesion and invasion in HEp-2 cells. *J Med Microbiol*. 2004; 53: 407-12.
 22. Superti F, Pietrantonio A, Di Biase AM, Longhi C, Valenti P, Tinari A. Inv-mediated apoptosis of epithelial cells infected with enteropathogenic *Yersinia*: a protective effect of lactoferrin. *Res Microbiol*. 2005; 156: 728-37.
 23. Murdock CA, Cleveland J, Matthews KR, Chikindas ML. The synergistic effect of nisin and lactoferrin on the inhibition of *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* O157:H7. *Lett Appl Microbiol*. 2007; 44: 255-61.
 24. D’Almeida WK. Efeito da lactoferrina na conservação do queijo Minas frescal. [Dissertação]. Londrina: Universidade Norte do Paraná, 2009.
 25. Bhimani RS, Vendrov Y, Furmanski P. Influence of lactoferrin feeding and injection against systemic staphylococcal infections in mice. *J. Appl. Microbiol*. 1999; 86: 135-44.
 26. Murdock CA, Matthews KR. Antibacterial activity of pepsin-digested lactoferrin on foodborne pathogens in buffered broth systems and ultra-high temperature milk with EDTA. *J Appl Microbiol*. 2002; 93: 850-56.

Recibido: 09-02-2012

Aceptado: 03-05-2012

Efecto bacteriostático y/o bactericida del extracto de gel de *Aloe vera* sobre cultivos de *Listeria monocytogenes*.

Luis Guillermo Ramírez Mérida, Alba Morón de Salim, Rosangela Catinella, Luis Castillo

Departamento de Biología, Facultad de Ciencias y Tecnología (FACYT). Escuela de Ciencias Biomédicas y Tecnológicas. Instituto de Investigaciones en Nutrición (INVESNUT). Escuela de Bioanálisis, Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad de Carabobo, Sede Valencia. Venezuela

RESUMEN. *Listeria monocytogenes* es una bacteria responsable de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA). Para comprobar el efecto del extracto de gel de *Aloe vera*, como posible agente bacteriostático y/o bactericida sobre *Listeria monocytogenes*, se determinó la concentración mínima inhibitoria (CMI), el tiempo mínimo de inhibición (TMI) y la concentración bactericida mínima (CBM) de soluciones de extracto de gel de *Aloe vera* en diferentes concentraciones sobre cultivos de *Listeria monocytogenes* ATCC 7635. Se aplicó el método de difusión en agar, utilizando soluciones del extracto de gel de *Aloe vera* en concentraciones de 0 a 100% para la CMI. El TMI se determinó por curvas de crecimiento en caldo Soya tripticasa con un inóculo inicial de *Listeria monocytogenes* ATCC 7635 de 108 UFC por mL en cada solución. Se pudo determinar que la CMI fue del 10% de extracto de gel de *Aloe vera* y el TMI fue de 5 horas en las concentraciones de 10%, 20% y 30% de *Aloe vera*, mientras que a las concentraciones de 50, 80, 90 y 100%, el tiempo fue de 8 horas. Se comprobó que efectivamente el gel de *Aloe vera* tiene poder bacteriostático sobre *Listeria monocytogenes* ($p < 0.001$), mas sin embargo, no se obtuvo un efecto bactericida en los ensayos realizados. **Palabras clave:** *Listeria monocytogenes*, *Aloe vera*, concentración mínima inhibitoria, tiempo mínimo de inhibición

SUMMARY. **Bacteriostatic and/or bactericidal extract of *Aloe vera* gel on cultures of *Listeria monocytogenes*.** *Listeria monocytogenes* is a bacteria responsible for food borne diseases (FBD). The effect of *Aloe vera* gel extract as a possible bacteriostatic and / or bactericidal against *Listeria monocytogenes*, was checked by determined the minimum inhibitory concentration (MIC), the time of minimum inhibition (TMI) and minimum bactericidal concentration (MBC) solutions extract of *Aloe vera* gel in different concentrations on cultures of *Listeria monocytogenes* ATCC 7635. We applied the agar diffusion method, using solutions of extract of *Aloe vera* gel at concentrations of 0 to 100% for the MIC. The TMI was determined by growth curves in trypticase soy broth with an initial inoculum of *Listeria monocytogenes* ATCC 7635 of 108 CFU/mL in each solution. It was determined that the MIC was 10% extract of *Aloe vera* gel and TMI was 5 hours at concentrations of 10%, 20% and 30% of *Aloe vera*, while concentrations of 50, 80, 90 and 100%, the time was 8 hours. It was found that indeed the *Aloe vera* gel is bacteriostatic power on *Listeria monocytogenes* ($p < 0.001$), but yet, no bactericidal effect was obtained in our study. **Key words:** *Listeria monocytogenes*, *Aloe vera*, minimum inhibitory concentration, time of minimum inhibition

INTRODUCCIÓN

La incidencia global de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) es difícil de estimar; sin embargo para el 2005, la Organización Mundial para la Salud (OMS), reportó cerca de 1,8 millones de personas que murieron por enfermedades diarreicas, con una considerable proporción de estos casos atribuidos a alimentos y aguas contaminadas. En los países industrializados, el porcentaje de la población afectada por ETA se estima en un 30%, mientras que en los países en vías de desarrollo su incidencia puede ser mayor (1).

Listeria monocytogenes, es responsable de ETA y agente etiológico de la listeriosis, infección gastrointestinal invasiva cuyas manifestaciones clínicas dependen del estado de la persona infectada: pacientes inmunosuprimidos, mujeres embarazadas, neonatos y personas de edad avanzada (2). El inóculo exacto y el periodo de incubación son desconocidos; se cree que se necesitan más de 10^3 microorganismos y entre 11 y 70 días para que se produzca la infección invasiva (3).

La listeriosis no ocurre muy a menudo; para el 2001 la incidencia osciló entre 0,3 a 7,5 casos por millón de personas en Europa (4); en Australia fue de 3 casos por millón de personas para el 2003 (5). En

Venezuela no se han confirmado casos de listeriosis, sin embargo, entre los datos disponibles de ETA, se reportaron 37 brotes entre 950 personas afectadas para el 2003 (6).

Si bien es cierto que la incidencia anual de listeriosis puede parecer relativamente baja en comparación con otras ETA, hay que considerar que esta patología se ha posicionado como una de las enfermedades transmitidas por alimentos más importante, debido al aumento de la población susceptible, las implicaciones a nivel clínico y su alta tasa de letalidad, así como la ubicuidad de *Listeria monocytogenes*.

Se ha evidenciado que los ácidos orgánicos como el ácido láctico y el ácido acético, generalmente usados en los alimentos para el control de microorganismos, provocan una tolerancia en *Listeria monocytogenes*; de allí que esta bacteria sea de interés, por su gran resistencia y capacidad de adaptación a diferentes medios (7-9). Aunado a la capacidad de sobrevivir en ambientes hostiles, *Listeria monocytogenes* posee rasgos fenotípicos que actúan como factores de virulencia.

Listeria monocytogenes, emerge hoy en día, como uno de los microorganismos de mayor riesgo para las poblaciones susceptibles y responsable de brotes en diversas partes del mundo. En este sentido y con la intención de aportar medios sencillos y eficaces que permitan reducir al mínimo la cantidad de *Listeria monocytogenes* en los alimentos, se propone la utilización de soluciones de extracto de gel de *Aloe vera* como sustancia no tóxica y con un potencial bacteriostático y/o bactericida sobre *Listeria monocytogenes* (10).

Aloe vera, posee hojas que contienen una pulpa o parénquima incoloro que forma el gel/cristal del *Aloe*, el cual representa aproximadamente el 65 a 80% del peso de la planta. Este gel está conformado por carbohidratos que son sintetizados en exceso, agua, minerales y ácido málico almacenado. Los polisacáridos mucilaginosos son los principios activos responsables de la actividad biológica del gel (11-13); en tal sentido, se ha demostrado una cierta actividad antimicrobiana del gel frente a diferentes microorganismos como *Trichophyton mentagrophytes*, *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans* (14,15).

Considerando el comprobado efecto inhibitorio que posee el gel de *Aloe vera* sobre los microorganismos, se propuso evaluar el efecto bacteriostático y/o bactericida que pudiese tener el extracto de gel de *Aloe vera* frente a *Listeria monocytogenes*, ya que el gel/cristal

de *Aloe vera* es de naturaleza comestible y no altera considerablemente las propiedades organolépticas de los alimentos, por lo que, demostrar que posee un efecto bacteriostático y/o bactericida frente a *Listeria monocytogenes* podría dar paso a su utilización como biopreservante, proporcionando medios alternativos en pro de mejorar la calidad microbiológica de los alimentos. De igual forma, serían excelentes alternativas naturales y económicas frente a los biopreservantes químicos usados en la actualidad.

MATERIALES Y METODOS

Investigación de campo, donde se evaluó el efecto bacteriostático y/o bactericida de soluciones del extracto de gel de *Aloe vera*, que actuaron sobre cultivos de *Listeria monocytogenes* ATCC 7635, cepas donadas por el Laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Ciencias y Tecnologías FACYT, de la Universidad de Carabobo.

Procedimiento Metodológico

Obtención del extracto de gel de *Aloe vera*. Las muestras (pencas) fueron donadas por la Facultad de Agronomía de la Universidad Central de Venezuela (núcleo Maracay, Edo. Aragua). Las pencas fueron cortadas de la base de la planta *Aloe vera* de aproximadamente dos (2) años de edad; se lavaron con agua y un agente tensoactivo, y se enjuagaron con una solución yodada al 2%; luego se procedió al despunte y descortezado de las mismas para la extracción del gel/cristal. El gel/cristal fue lavado por aspersion de agua y escurrimiento, para eliminar el acíbar secretado por la corteza al ser excluida. Luego, el gel/cristal fue comprimido para obtener el jugo o mucílago, el cual se filtró mediante el empleo de un filtro a presión manual y 25 °C de temperatura; el filtrado se centrifugó a 15000 rpm, en una centrifuga Avanti Centrifuge J-26 XP, a 37°C con la intención de eliminar sólidos en suspensión y disminuir la viscosidad; una vez clarificado el mucílago, se procedió a pasteurizarlo a 50°C durante 2 horas, y se concentró hasta 50% de su volumen inicial. Para ello se utilizó un concentrador al vacío Eppendorf 5301, manteniendo una temperatura de 45°C durante 90 min. Con el extracto concentrado de gel de *Aloe vera* se prepararon soluciones de concentración del 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 y 100%, respectivamente, con agua estéril, para los ensayos posteriores.

Preparación del inóculo. A partir de un cultivo original de *L. monocytogenes* ATCC 7635 de 24 h/overnight, se tomó con una asa de platino y se sembró en placas de agar nutritivo, incubándose a 35°C por un período de 4 a 6 horas, para lograr la fase logarítmica. Posteriormente y a partir de una colonia aislada se tomó con el asa y se preparó una suspensión con agua estéril, ajustando la densidad de la suspensión del cultivo por comparación de su turbidez con un estándar de 0,5 de Mc Farland de BaSO₄, mediante este procedimiento se garantizó un inóculo inicial de 10⁸ UFC/mL de *Listeria monocytogenes*.

Método de difusión en Agar según Kirby Bauer. Para esta prueba se prepararon placas de Petri con agar PALCAM con un grosor de 6 mm en cada placa. Una vez solidificado el agar, se impregnaron hisopos estériles con la solución de *Listeria monocytogenes* ATCC 7635 y se procedió a inocular cada una de las placas, cubriendo todo el espacio disponible, hasta obtener una distribución uniforme de las colonias. Por otro lado, discos de papel de filtro Watman N° 54, con diámetro de 6 mm, y estériles, fueron impregnados con las soluciones de concentraciones específicas de extracto de gel de *Aloe vera*, previamente preparadas, y se colocaron en las placas inoculadas anteriormente; se colocaron cinco (5) discos de concentraciones diferentes de extracto de *Aloe vera* por placa inoculada. Las placas fueron incubadas a 37°C, se observaron a las 24 y 48 horas de incubación. Los halos de inhibición alrededor de los discos, fueron medidos con un vernier tomando dos medidas por cada disco promediándose; los ensayos se llevaron a cabo por duplicado. Como patrón de referencia, de los antibiogramas, se utilizaron discos de Ampicilina y Gentamicina específicos para la inhibición de *Listeria* en concentraciones de 10 µg respectivamente.

Determinación del tiempo mínimo de inhibición. La determinación del tiempo mínimo de inhibición se realizó midiendo el crecimiento bacteriano, para ello se prepararon 7 frascos Erlenmeyer de 50 mL, identificados del 1 al 7, a cada una se les vertió 10 mL de caldo nutritivo estéril; seguidamente al frasco N° 1 se le agregaron 10 mL de extracto de *Aloe vera* al 10%; al frasco N° 2, 10 mL de extracto de *Aloe vera* al 20%, y realizando el mismo procedimiento para las concentraciones 30%, 50%, 80%, 90%, 100% respectivamente; se preparó un frasco control con 10 mL de caldo nutritivo. Cada uno de los frascos fueron inocu-

lados con 0,1 mL de suspensión de 10⁷ UFC/mL de *Listeria monocytogenes* ATCC 7635; inmediatamente se procedió a medir la absorbancia con un espectrofotómetro Thermo Spectronic Génesys UV, a 540 nm (tiempo 0). Posteriormente los frascos inoculados se incubaron a 37°C midiendo la absorbancia a intervalos de una hora hasta transcurridas 12 horas desde la primera medición. Los datos obtenidos fueron graficados para obtener las curvas de crecimiento respectivas.

Se comparó la curva resultante de cada concentración de la solución de *Aloe vera* con la curva de 0%, a fin de evidenciar diferencias significativas en el crecimiento de *Listeria monocytogenes*. Todos los experimentos se realizaron por duplicado.

Concentración Mínima Bactericida. De los frascos preparados para la prueba de Tiempo Mínimo de Inhibición, se tomó una asada y se sembró en una placa de Petri con agar Palcam, se incubaron a 37°C durante 24h. Luego de las 24h se observaron las placas y se seleccionó aquella en la que no hubo crecimiento bacteriano. La concentración de la solución de *Aloe vera* en la que no hubo crecimiento bacteriano en la placa fue tomada como la concentración bactericida mínima.

Análisis de los Datos. Los datos relativos a la formación o no del halo de inhibición microbiológico, así como el diámetro del halo, fueron por duplicado y se promediaron. Se procesaron a través de un análisis descriptivo (media aritmética) y se construyeron diagramas de cajas y aristas (BOX & WHISKER PLOT) en relación a la media de los halos de inhibición obtenidos. Para determinar cambios en la dinámica de crecimiento en *Listeria monocytogenes*, de acuerdo a las concentraciones del extracto de gel de *Aloe vera* usadas en el estudio, se promediaron y se graficaron las densidades ópticas obtenidas, a fin de presentar las respectivas curvas de crecimiento microbiano, 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). Los datos fueron procesados a través del programa estadístico STATISTIX 9.0.0.

RESULTADOS

Los resultados obtenidos durante la realización de los ensayos propuestos para evaluar el efecto bacterios-

tático y/o bactericida del extracto de gel de Aloe vera en cultivos de *Listeria monocytogenes* ATCC 7635, en comparación con los halos de inhibición de los patrones de referencia de antibióticos (0,5 mm), mostraron que los halos de inhibición promedio, obtenidos con las diferentes concentraciones del extracto de gel de Aloe vera, fueron de 1,5 mm para las concentraciones de 10 a 40% respectivamente, así como de igual magnitud para las concentraciones 60,70 y 100%, mientras que se pudo observar una tendencia inhibitoria superior en la concentración del 90%, según se evidencia en la figura de caja y aristas (Figura 1).

La Figura 2, muestra la curva de crecimiento de *Listeria monocytogenes* en condiciones normales de caldo nutritivo y curvas de crecimiento del micro-

organismo en soluciones de Aloe vera a diferentes porcentajes de concentración y medidas por densidad óptica. La curva normal de crecimiento sin Aloe vera (0%), muestra el comportamiento esperado: una fase de latencia o adaptación la cual se inicia luego de la inoculación del microorganismo culminando aproximadamente a las 4 horas; seguidamente una fase logarítmica o exponencial hasta alcanzar su pico máximo de multiplicación a las 8 horas de incubación para mantenerse en fase estacionaria hasta el final de las mediciones. Las curvas de crecimiento del microorganismo a las diferentes concentraciones del extracto de Aloe vera evidencian un patrón de crecimiento que sigue la tendencia de fase de latencia que, para las soluciones con concentraciones del ex-

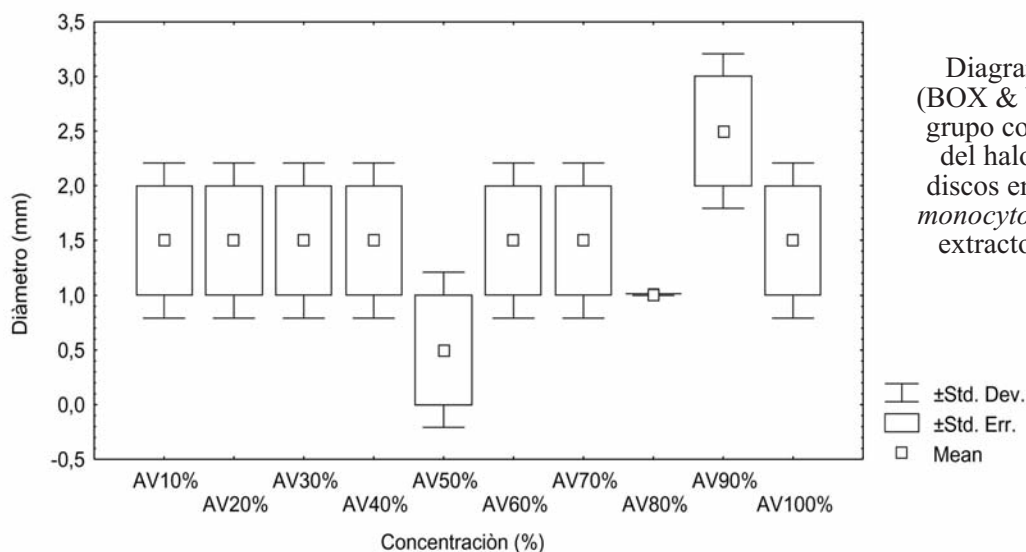


FIGURA 1
Diagrama de cajas y aristas (BOX & WHISKER PLOT) por grupo con relación al diámetro del halo de inhibición de los discos en el cultivo de *Listeria monocytogenes* en presencia del extracto de gel de Aloe vera.

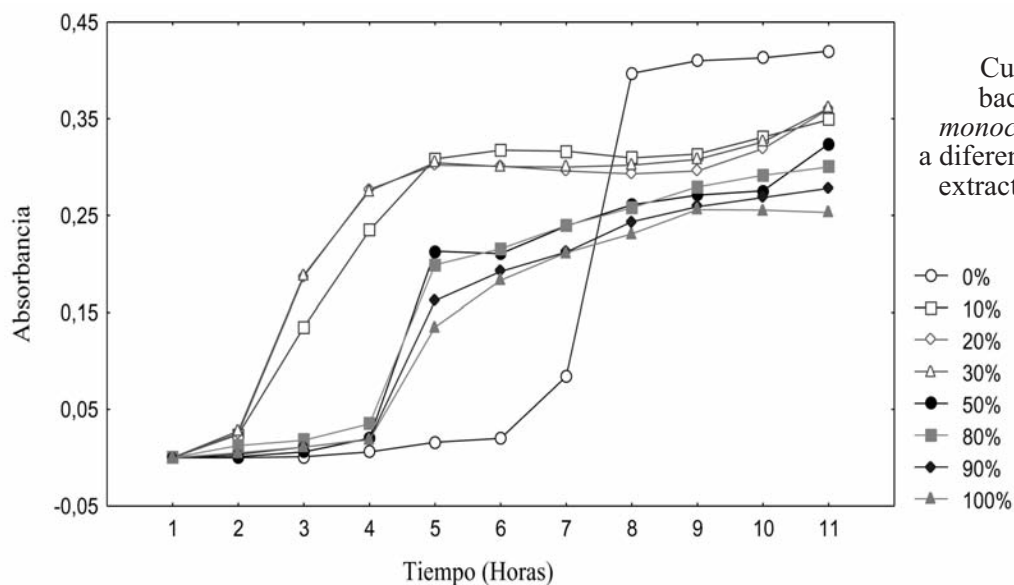


FIGURA 2
Curva de crecimiento bacteriano de *Listeria monocytogenes* ATCC 7635, a diferentes concentraciones del extracto de gel de Aloe vera.

tracto de 10, 20 y 30% respectivamente finaliza a las 2 horas, mientras que para las concentraciones de 50, 80, 90 y 100% finaliza a las 4 horas; la fase logarítmica o exponencial se mantiene desde las 2 horas hasta las 5 horas para las concentraciones de 10, 20 y 30% y a partir de este momento se mantiene en fase estacionaria hasta el final de las mediciones realizadas. Por otro lado, para las concentraciones de 50, 80, 90 y 100% de extracto de *Aloe vera* la fase logarítmica o exponencial del crecimiento del microorganismo comienza después de 4 horas de incubación y se mantiene hasta las 8 horas, con una declinación leve del crecimiento, por lo que se puede considerar que entra en fase estacionaria, y luego continuar un crecimiento hasta las 11 horas.

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en la prueba de correlación de Spearman, evidenciaron que al comparar la curva de crecimiento normal respecto a las distintas soluciones de concentraciones de *Aloe vera*, existe una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,01$). En la gráfica de crecimiento microbiano, resultante de la aplicación de *Aloe vera*, se pueden observar que las tres fases de crecimiento se lograron en un menor tiempo, respecto a la curva control (0%). Este comportamiento pudiera deberse a la presencia de ciertas sustancias contenidas en el gel de *Aloe vera*, que pudieron favorecer el crecimiento de la bacteria, tales como: minerales, vitaminas, proteínas, iones y como principal carbohidrato, la glucosa (12). Sin embargo, a pesar de este favorecimiento, las curvas de crecimientos resultantes para cada una de las concentraciones de *Aloe vera* utilizadas, muestran picos de absorbancias muy por debajo al obtenido en la curva control, demostrando esto, que a pesar de que se alcanzó la fase exponencial rápidamente, las diferentes concentraciones de gel *Aloe vera*, interfirió en el crecimiento de *Listeria*, que pudo ser debido a la presencia de ciertos factores inhibidores presentes en el gel (14).

Agary y col. (14), demostraron que el gel del *Aloe vera* posee efectos inhibitorios sobre otros microorganismos, tales como *Staphylococcus aureus* y *Trichophyton mentagrophytes*, efecto que no lograron al aplicar extractos de la penca sobre los mismos cultivos, sugiriendo que existen constituyentes del gel de la penca que no están presentes en la corteza de la

misma y que tienen un potencial antimicrobiano importante, no sólo para cierto tipos de microorganismos, sino para diferentes bacterias e incluso hongos, de tal manera que a lo demostrado en trabajos precedentes, se une lo logrado en la presente investigación, al demostrarse la existencia de una acción bactericida sobre *Listeria monocytogenes*.

Adicional al efecto inhibitorio que el gel de *Aloe vera* tiene sobre algunos microorganismos, existen trabajos que reportan efectos positivos de ciertos componentes purificados de este gel, tal como es el caso del acemanano, uno de los principales componentes polisacáridos que están presentes en el gel de la planta y que según investigaciones, permite potenciar la actividad inmunomoduladora, al incrementar la sensibilidad de los macrófagos, aumentando la superficie de expresión molecular (16). Por otra parte, también se ha identificado que dicha sustancia, el acemanano, tiene la facultad de inhibir la adherencia de *Pseudomona aeruginosa* a las células epiteliales del pulmón en humanos (17), por lo que se amplían los descubrimientos sobre los efectos de este carbohidrato del que el gel de *Aloe vera* es tan rico. Si bien el gel de *Aloe vera* posee muchos otros componentes, no se debe dejar a un lado la posibilidad de que el acemanano sea responsable, entre otras cosas, del efecto bacteriostático sobre *Listeria monocytogenes*, reflejado en el presente trabajo.

Se pudo demostrar que el extracto del gel de *Aloe vera* posee cierto efecto bacteriostático sobre *Listeria monocytogenes*, requiriendo para ello una concentración mínima de 10% del mismo. Asimismo, se pudo observar en las curvas de crecimiento que no se logró un efecto bactericida, por cuanto en cada una de ellas la bacteria logró desarrollarse en mayor o menor medida.

El tiempo requerido para observar el efecto inhibitorio del gel de *Aloe vera* sobre *Listeria monocytogenes*, fue de 5 horas para las diferentes concentraciones del extracto de gel de *Aloe vera*, con un efecto bacteriostático estadísticamente significativo ($p < 0,01$), aunque el efecto no fue directamente proporcional al aumento de su concentración.

Se puede inferir que el gel de *Aloe vera* tiene potencial para ser sugerido como biopreservante en la industria alimenticia, evitando de esta manera la proliferación de *Listeria monocytogenes*, como un patógeno emergente, con capacidad de afectar a un seg-

mento importante de la población, principalmente los más susceptibles. Se recomienda la realización de estudios donde se lleve a cabo la correlación de los halos de inhibición obtenidos del extracto de gel de *Aloe vera* con otros compuestos con capacidad antibacteriana a diferentes concentraciones, en el que la bacteria en estudio resulte sensible, para de esta manera discernir mejor el efecto bacteriostático de *Aloe vera* y tener un marco de referencia comparativo. De igual forma se sugiere la utilización del extracto de gel de *Aloe vera* liofilizado, siendo esta una buena alternativa de concentración de esta sustancia que pudiera ofrecer mejores y mayores resultados sobre *Listeria monocytogenes* y demás patógenos alimentarios.

REFERENCIAS

1. Organización Mundial para la Salud OMS. Food safety and foodborne illness 2007. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs237/en/> [Consulta: 2011, Febrero 24].
2. Vázquez-Boland J, Kuhn M, Berche P, Chakraborty T, Dominguez-Bernal G, Goebel W, et al. *Listeria* Pathogenesis and Molecular Virulence Determinants. *Clinical Microbiology Reviews* 2001; 4 (3): 584–640.
3. Salas, J. Listeriosis, una infección poco frecuente 2002 Disponible en: <http://www.consumer.es/seguridad-alimentaria/ciencia-y-tecnologia/2002/01/15/629.php> [Consulta: 2010, Noviembre 25].
4. De Valk H, Jacquet C, Goulet V, Vaillant V, Perra A, Desenclos JC et al. Feasibility study for a collaborative surveillance of listeria infections in Europe. Informe presentado por el Institut de veille sanitaire e Institut Pasteur a la Comision Europea. Paris: European Commission, 2003.
5. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación [FAO]/ Organización Mundial para la Salud [OMS]. Evaluación de riesgos de *Listeria monocytogenes* en alimentos listos para el consumo 2004 [Documento en línea]. Disponible en: <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/008/y5393s/y5393s00.pdf> [Consulta: 2010, Noviembre 25].
6. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación [FAO]/ Organización Mundial para la Salud [OMS]. Situación actual del control de la inocuidad de alimentos en Venezuela: análisis de la situación 2005. Disponible en: <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/meeting/010/af112s.pdf> [Consulta: 2010, Noviembre 25].
7. Adams M, Moss M. Microbiología de los Alimentos (1ª edición). Zaragoza: Editorial Acribia, 1995.
8. O'Driscoll B, Gahan CG, Hill C. Adaptive acid tolerance response in *Listeria monocytogenes*: isolation of an acid-tolerant mutant which demonstrates increased virulence. *Applied and environmental microbiology* 1996 Mayo; 62 (5):1693-1698.
9. Oteo J, Alós J. Listeria Y LISTERIOSIS 2004. Disponible en: http://www.seimc.org/control/revi_Bacte/listeria.htm [Consulta: 2008, Septiembre 15].
10. García J, Picazo J. Microbiología médica (1ª edición., Vol. I). Madrid: Editorial Mosby, 1996.
11. Schweizer M. *Aloe vera*: la planta que cura (1ª edición). Paris: A P B, 1995.
12. Boudreau MD, Beland FA. An Evaluation of the Biological and Toxicological Properties of *Aloe Barbardensis* (Miller), Aloe Vera. *Journal of Environmental Science and Health* 2006; 24 (1): 103-154.
13. Tai-Nin Chow J, Williamson D, Yates K, Goux W. Chemical characterization of the immunomodulating polysaccharide of *Aloe vera* L. *Carbohydrate research* 2005 Mayo; 340 (6): 1131-1142.
14. Agarry O, Olaleye M, Bello-Michael C. Comparative antimicrobial activities of *Aloe vera* gel and leaf. *African Journal of Biotechnology* 2005 Diciembre; 4 (12): 1413-1414.
15. Ferro VA, Bradbury F, Cameron P, Shakir E, Rahman SR, Stimson WH. In vitro susceptibilities of *Shigella flexneri* and *Streptococcus pyogenes* to inner gel of *Aloe barbadensis* Millier. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 2003 Marzo; 47 (3):1137-1139.
16. Zhang L, Tizard I. Activation of a mouse macrophage cell line by acemannan: the major carbohydrate fraction from *Aloe vera* gel. *Journal of Immunopharmacology* 1996 Noviembre; 35(2):119-28.
17. Azghani A, Williams I, Holiday D, Johnson A. A beta-linked mannan inhibits adherence of *Pseudomonas aeruginosa* to human lung epithelial cells. *Glycobiology* 1995 Septiembre; 5 (1): 39-44.

Recibido: 22-01-2012

Aceptado: 15-05-2012

Establecimiento de condiciones óptimas para obtener un aislado proteico de avellana chilena (*Gevuina avellana*, Mol)

Mario Villarroel, Constanza Zapata, Leonardo Pino, Mónica Rubilar

Departamento de Ingeniería Química. Universidad de La Frontera, Temuco, Chile.
Technology and Processes Unit, CGNA, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile.

RESUMEN. Una alternativa para resolver el problema del déficit global de proteínas ha sido la utilización de tortas desgrasadas generadas por la extracción de aceite de fuentes vegetales tales como raps, soya, lupino, etc, proceso que al mismo tiempo incrementa el contenido proteico, siendo factible que sea usada para enriquecer algunos tipos de alimentos. Tal es el caso de la avellana chilena (*Gevuina avellana*, Mol), especie monotípica caracterizada por su elevado porcentaje de aceite (50%) y cuya torta desgrasada podría utilizarse para obtener un aislado proteico. Con este fin se optimizaron las condiciones de extracción de proteína utilizando para ello la metodología superficie de respuesta (MSR) seleccionando el diseño central compuesto, tres variables independientes: tiempo de contacto de la torta con el solvente, relación muestra/solvente y pH, con 5 niveles de trabajo cada uno y tres replicaciones en el punto central. Los datos fueron sometidos a un análisis de regresión y después de ANOVA. El primero para determinar la ecuación polinómica y el segundo para seleccionar los factores de control con efecto significativo sobre el rendimiento de la proteína. La mejor combinación de los factores resultó ser tiempo entre 30 y 40 minutos, pH entre 9 y 9,5 y la relación muestra/ solvente entre 1/15 a 1/16, con un rendimiento final de 76%. En cuanto a las características físicas esta fueron: densidad aparente 0,504 g/cm³, compactación 43,34% y color amarillo claro. El análisis proximal mostró una concentración de proteínas de 76%, hidratos de carbono 13%, fibra cruda 0,68% y aceite 1,29%. En cuanto a las propiedades funcionales destacó absorción de agua (320 g/100 g), absorción de aceite (410 g/100g) y capacidad espumante (221, 05 %).

Palabras clave: Avellana chilena, aislado proteico, MSR, optimización, absorción de agua, absorción de aceite

SUMMARY. Establishment of optimum conditions in order to obtain a protein isolate from Chilean Hazelnut.

An alternative to solve the problem of the overall deficit of proteins has been the use of defatted cakes generated by the extraction of oil from vegetable sources such as rapeseed, soybean, lupin, etc. This process at the same time increases the protein content, making this feasible to be used to enrich some types of food. This is the case of the Chilean hazelnut (*Gevuina avellana*, Mol), monotypic species characterized by their high percentage of oil (50%) and whose defatted cake isolated protein could be used to obtain an isolated protein. For this purpose optimized conditions of extraction of protein were carried out using the surface response methodology (SRM) and a central composite design with three independent variables: time of contact of the cake with the solvent, sample /solvent ratio and pH was used. All variables were controlled at five different levels. The data were subjected to an analysis of regression and ANOVA, the first to determine the polynomial equation and the second to select the control factors with significant effect on the extraction of the protein. The best combination of factors turned out to be: time between 30 and 40 minutes, pH between 9 and 9.5 and a relationship sample / solvent between 1/15 to 1/16 with a final yield of 76%. The physical characteristics were: density 0,504 g/cm³, compaction 43, 34 % apparent and pale yellow. Proximal analysis showed a concentration of protein of 76%, 13%, raw fiber carbohydrate 0.68% and oil 1.29%. With regard to the functional properties emphasized water absorption (320 g / 100 g), absorption of oil (410 g / 100 g) and foaming capacity (221 %).

Key words: Chilean hazelnut, protein isolate, MSR, optimization, water absorption, oil absorption

INTRODUCCION

La demanda mundial por materias primas ricas en proteína aumenta a razón de 3 a 4% anual y se pronostica que esta tendencia continuará, incluso en forma más acentuada. Por ejemplo, en Europa, el consumo de proteína por habitante se multiplicó por 12 en las últimas cuatro décadas y ahora es el turno de países

tan populosos como China e India. (1)

Una forma alternativa para resolver el problema del déficit global de proteína ha sido utilizar la torta desgrasada de semillas de raps, soya, lupino, maravilla, etc para obtener los respectivos aislados proteicos, existiendo con este fin varios métodos como la precipitación de las proteínas en el punto isoeléctrico (2), ultrafiltración (3) y extracción supercrítica (4). Para su

uso existe mucha información en la literatura especializada con el fin de complementar la formulación de algunos alimentos. Al respecto se puede mencionar el trabajo de Wills and Kabisullah (5) quienes utilizaron aislado proteico de girasol para incorporarlo a formulaciones de vienas dando como resultado productos de buena calidad sensorial y tecnológica. En esta misma línea de aplicación se puede mencionar el trabajo de Cruz et al (6) que demostraron la factibilidad de adicionar hasta un 18% de concentrado proteico de sésamo a formulaciones de salame fermentado. Lo mismo se puede decir de Bourgues et al (7) que incluyeron concentrado proteico de maravilla a formulaciones de galletas y Ashraf et al (8) que lograron incorporar hasta un 30% de este concentrado en galletas de jengibre

En la región sur de Chile crece en forma silvestre y abundante el avellano con una producción de su fruto estimada en 300.000 ton anuales (9) destacando su contenido en aceite 50% y proteínas 12% de buena calidad (10) Actualmente su fruto se utiliza en forma industrial en la producción de aceite para uso cosmético. Como consecuencia de la extracción de aceite queda la harina desgrasada, destinada para consumo humano o animal, que contiene aproximadamente 20% en proteínas y 12% en fibra (11). Tomando en cuenta estos antecedentes se ha estimado oportuno optimizar el proceso de obtención del aislado proteico de avellana (APA) utilizando la metodología superficie de respuesta (MSR) para diversificar a futuro la utilización de este recurso nativo como fuente proteica no tradicional.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materia prima

Para el desarrollo de las actividades experimentales se utilizó como fuente proteica harina desgrasada de avellana (HDA) donada por el Instituto de Agroindustria de la Universidad de La Frontera. En una primera etapa muestras de HDA se secaron a una temperatura de 40°C durante 6 hrs en una estufa, modelo WTC hasta disminuir el porcentaje de humedad alrededor de 5%. Enseguida se homogeneizó el tamaño de partícula utilizando un sistema de tamices ASTM recogiendo la muestra que pasó el tamiz abertura de malla 80 mesh (0.18mm). Enseguida se procedió a la extracción del aceite residual utilizando un equipo soxhlet

y éter de petróleo, durante seis horas, hasta lograr una concentración final de aceites inferior al 2%.

Obtención de aislado proteico de avellana

Cuarenta y cinco gramos de HDA se mezclaron con agua destilada con una relación muestra/ solvente de 1/15, 1/16, 1/18, 1/20 y 1/21 ajustando a diferentes valores de pH (8, 9, 10, 11 y 12) con hidróxido de sodio 5 N. Se procedió a agitar a 300 r.p.m. en un shaker por 50 minutos. Posteriormente se centrifugó a 4400 rpm. por 15 minutos filtrando el sobrenadante para separar las partículas que pudieran quedar en suspensión. El filtrado se calentó hasta 60° C en placa calefactora con agitación permanente. Después se agregó HCl 0,1 N para bajar el pH hasta llegar a un valor de 4,4 que es el punto isoeléctrico del aislado proteico. La proteína se dejó reposar, durante 20 minutos, facilitando de esta forma su separación mediante centrifugación a 4400 rpm durante 15 minutos, operación que se repitió dos veces. Posteriormente, la muestra se liofilizó y fue almacenada a 4° C para su posterior utilización.

Diseño experimental

El diseño experimental es básicamente un plan organizado que aplica en forma sistemática métodos estadísticos de optimización (12,13) para modificar deliberadamente algunas variables independientes previamente seleccionadas y estudiar o predecir sus efectos sobre un resultado específico y permite a los investigadores disponer de una gran cantidad de información valiosa utilizando un bajo número de muestras, ensayos o experimentos. La MSR consiste en un grupo de técnicas empíricas dedicada a cuantificar la relación existente entre variables independientes y una o más respuestas. Este modelo matemático de múltiples factores se utiliza para optimizar procesos, modificar o cambiar componentes de una reacción simultáneamente, identificar factores de control con un efecto significativo en la respuesta e interacciones entre las variables. Además, la MSR, puede utilizarse para elaborar gráficos de superficie y de contorno para contribuir a la predicción de la respuesta en un punto cualquiera de la región experimental de interés y obtener además un modelo o ecuación polinómica de segundo orden, que generalmente funciona bien para la optimización de procesos (13).

En este estudio se aplicó el diseño central compuesto rotatorio (DCC), debido a su capacidad para

ajustar el comportamiento cuadrático en los procesos de optimización. Las variables independientes seleccionadas fueron: tiempo de contacto con el solvente (X1), relación muestra/solvente (X2) y pH (X3) con 5 niveles de trabajo cada uno codificadas como sigue: $-\alpha$, -1 , 0 , $+1$ y $+\alpha$, representando los niveles axial inferior, mínimo, central, máximo y axial superior respectivamente. El rango de las variables y sus niveles de trabajo se obtuvieron examinando información encontrada en la literatura especializada y ensayos con prototipos. (ver Tabla 1).

Para determinar el comportamiento óptimo del sistema, los datos experimentales fueron sometidos a un análisis de regresión y ajustados a un modelo polinómico de segundo orden donde Y es la respuesta (proteína soluble); X1, X2, X3 las variables independientes y b0, b1, b2, b3, b11, b22, b3, b23 los coeficientes de regresión lineales, cuadráticos y las interacciones respectivamente

$$Y = b_0 + b_1 X_1 + b_2 X_2 + b_3 X_3 + b_{11} X_1^2 + b_{22} X_2^2 + b_{33} X_3^2 + b_{12} X_1 X_2 + b_{13} X_1 X_3 + b_{23} X_2 X_3 + \text{error}$$

Además se aplicó un análisis de varianza que incluye el test de Fisher, su probabilidad asociada, el coeficiente de determinación R^2 que mide la bondad de ajuste del modelo de regresión y la Señal/Ruido sinónimo de robustez. Finalmente se graficó el comportamiento de la respuesta elaborando gráficos de contorno y de superficie tridimensional utilizando el software Design Expert 6.07 (Stat-ease, Minneapolis, USA).

Caracterización del aislado proteico de avellana. Química

La composición química se analizó según metodologías propuestas por la AOAC (14). En cuanto a la proteína soluble se aplicó el método de Lowry (15)

Físicas

La densidad aparente y compactación (Bulk density) fueron determi-

nadas aplicando las técnicas descritas por Alvarado y Aguilera.(16). En cuanto a color se utilizaron las metodologías de Calvo (17) y el sistema CIELAB (18). En cuanto a las propiedades funcionales, para determinar la absorción de agua se aplicó el método de Sosulski (19). En el caso de la absorción de aceite se siguió el método descrito por Dench (20); para la capacidad y estabilidad emulsificante se usó el método descrito por Nacz et al (21). En cuanto a la capacidad y estabilidad espumante se siguió el método de Betschart *et al.*(22) mientras que la capacidad de gelificación fue determinada por el método de Coffman *et al.* (23)

RESULTADOS

La Tabla 1 muestra el diseño central compuesto con las 17 combinaciones de las tres variables independientes y los correspondientes resultados de los niveles axial mínimo inferior, mínimo, central, máximo y axial máximo respectivamente y el rendimiento del aislado proteico obtenido tanto experimental como teórico entre 54 y 79%.

TABLA 1
Rendimiento del aislado proteico de avellana (%)

Punto diseño	X1	X2	X3	Actual	Teórico
1	20 (-1)	0.050 (-1)	9.00 (-1)	61.80	58,83
2	40 (+1)	0.050 (-1)	9.00 (-1)	69.90	68.32
3	20 (-1)	0.063 (+1)	9.00 (-1)	67.50	66.14
4	40 (+1)	0.063 (+1)	9.00 (-1)	78.70	76.78
5	20 (-1)	0.050 (-1)	11.00 (+1)	66.30	68.49
6	40 (+1)	0.050 (-1)	11.00 (+1)	66.40	68.03
7	20 (-1)	0.063 (+1)	11.00 (+1)	55.70	57.55
8	40 (+1)	0.063 (+1)	11.00 (+1)	55.00	58.24
9	10 (-alfa)	0.057 (0)	10.00 (0)	66.00	66.28
10	50 (+alfa)	0.057 (0)	10.00 (0)	77.00	76.45
11	30 (0)	0.045 (- alfa)	10.00 (0)	65.00	65.56
12	30 (0)	0.068 (+alfa)	10.00 (0)	64.40	63.46
13	30 (0)	0.057 (0)	8,00 (- alfa)	64.00	68.05
14	30 (0)	0.057 (0)	12.00 (+alfa)	63.50	59.18
15	30 (0)	0.057 (0)	10.00 (0)	63	59.94
16	30 (0)	0.057 (0)	10.00 (0)	54.00	59.97
17	30 (0)	0.057 (0)	10.00 (0)	63.00	59.93

X1= tiempo (min); X2= relación soluto/solvente; X3= pH

TABLA 2
Análisis de varianza y valores de probabilidad
obtenidos de la optimización del aislado proteico avellana

F. variación	Suma cuadrado	G L	F exp.	Probab	R2
X1	103.53	1	5.62	0.05*	14.9
X2	5.27	1	0.29	0.61	0.8
X3	78.77	1	4.28	0.05*	11.3
X ₁ ²	160.60	1	8.72	0.02*	23.1
X ₂ ²	26.92	1	1.46	0.27	3.9
X ₃ ²	16.59	1	0.90	0.37	2.4
X1X2	0.66	1	0.04	0.85	0.1
X1X3	49.50	1	2.69	0.15	7.1
X2X3	166.53	1	9.04	0.02*	24.0
Falta ajuste	74.97	5	0.56	0.74	10.8
Error puro	54.00	2			7.8
Total	695.09	16			81.5

X1= tiempo X2= relación soluto/solvente X3= pH

*significativo p≤0.05

TABLA 3
Análisis químico comparativo entre Aislado Proteico de
Avellana (APA), Avellana y Concentrado proteico de avellana

Componente	APA(a)	Avellana (b)	CPA(b)
Humedad	3.96	7.50	4.25
Cenizas	5.00	3,6	4.15
Fibra cruda	0.68	2.80	2.14
Extracto etéreo	1.29	49.30	4.62
Proteína	76.00	12.40	21.47
Hidratos de Carbono	13.07	24.40	63.37

Fuente: (a) Aislado Proteico Avellana; (b) (ref. 10)

TABLA 4
Propiedades funcionales de aislados proteicos

Prop. Funcionales	APA	APR(a)	APS(b)	APL(c)
Absorción agua	320.00	208.32	331.65	155.00
Absorción aceite	410.00	188.75	440.00	389.00
Cap. Emulsificante	54.35	61.32	70.00	74.00
Estab. Emulsificante	42.93	55.50	68.00	69.40
Cap. Espumante	221.05	8.87	46.00	92.40

APA =Aislado protéico avellana, APR=Aislado protéico raps,

APS= Aislado proteico soya y APL= aislado proteico lupino

Fuente: (a) (ref.24); (b) (ref.25); (c) (ref.26)

Por otra parte en la Tabla 2 se presentan los resultados del análisis de varianza que permite identificar las variables con un efecto significativo en la variación de la respuesta, así como la contribución de las variables independiente para explicar el comportamiento de la respuesta, destacando los factores lineales tiempo de contacto y pH.

La Tabla 3 presenta el análisis químico comparativo entre el aislado proteico de avellana, el fruto y el concentrado proteico mostrando diferencias significativas entre estos productos como consecuencia de las manipulaciones a las que fueron sometidas (11)

La Tabla 4 describe las propiedades funcionales del aislado proteico de avellana comparado con los aislados proteicos de colza (24), soya (25) y lupino (26) destacando los valores de absorción de agua, aceite y capacidad espumante.

La Figura 1 incluye la representación gráfica tanto tridimensional como de contorno del efecto de las variables independientes tiempo y pH sobre el rendimiento del aislado proteico de avellana que permitió obtener la combinación óptima de los factores de control para obtener el máximo rendimiento. Estas fueron: Tiempo entre 35 a 40 minutos; relación m/solvente 1/16 a 1/17 y pH 9.0.

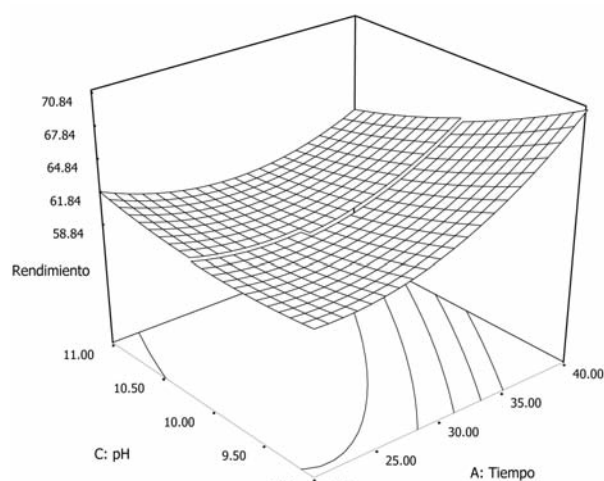


FIGURA 1

Efecto de la variación del rendimiento (%) del Aislado proteico de avellana causado por lo factores de control pH y Tiempo de contacto (min)

DISCUSION

Optimización de las condiciones de extracción de la proteína de avellana.

En general, la eficiencia de la extracción de la proteína está influenciada por múltiples factores que deben actuar simultáneamente. De acuerdo a los resultados mostrados en la Tabla 1 se observa que el mayor contenido de proteína correspondió a las condiciones de extracción del punto de diseño 4 (tiempo de contacto = 40 minutos, relación muestra/ solvente = 1/16 y pH = 9.0) dando como resultado un 78,7% de proteína soluble, mientras que el menor resultado se encontró en los puntos de diseño 7, 8, y 16 (tiempo de contacto = entre 30 y 40 minutos, pH = entre 10 y 11 y relación muestra/ solvente = 1/16) con rendimientos entre 55% y 56%. Esta disminución en el rendimiento podría ser explicado por un incremento en la alcalinidad del medio hasta un pH 11, y disminución de relación soluto/solvente tendencia que concuerda a lo obtenido para la extracción de proteínas de lupino (26).

Finalizada la parte experimental, los datos fueron sometidos a un análisis de regresión múltiple, determinándose la relación causa/efecto entre el rendimiento de la extracción de proteína (Y) y los coeficientes de regresión lineal, cuadrática e interacciones que se muestran en la siguiente ecuación polinómica ajustada de segundo orden.

$$Y = 59.94 + 2.54X_1 - 0.62X_2 - 2.22X_3 + 2.86X_1^2 + 1.58X_2^2 + 0.92X_3^2 + 0.29X_1X_2 - 2.49X_1X_3 - 4.56 X_2X_3$$

Los coeficientes de regresión indican que existe un claro predominio causa/efecto de las variable tiempo y pH, en sus formas lineales mientras que en la forma no lineal destacan las variables tiempo y relación soluto/solvente. En cuanto a las interacciones el mayor efecto correspondió a la relación soluto/solvente y pH, hechos que fueron confirmados con el análisis de varianza (ANOVA) como muestra la Tabla 2. con valores de F experimentales y regiones de probabilidad demostraron variaciones significativas ($p < 0.05$) en la extracción de la proteína. El ajuste del modelo fue comprobado por el coeficiente de determinación $R^2 = 0.8145$ valor que indica una buena relación causa efecto, que junto con el valor de la señal/ruido de 5,49 indican que la calidad de la respuesta es robusta y consistente a pesar de la interferencia o ruido. Observando los gráficos que relacionan los factores de control

tiempo de contacto con el solvente, relación muestra/ solvente y pH, se demostró que el factor tiempo destaca nítidamente en la variación de la respuesta comparado con los factores pH y relación muestra/ solvente, de esta manera la mejor combinación de los factores para obtener el óptimo resultado fue: tiempo entre 30 y 40 minutos, pH 9.0 y relación muestra/ solvente entre 1/15 a 1/16), con un rendimiento del APA cercano a 77 %. (ver Figuras 4.1, 4.2, 4.3). Esto se puede explicar porque la avellana contiene altas concentraciones de albúminas (42%) y globulinas (20.2%), las cuales son muy solubles en agua y porque a pH alcalinos la solubilidad de las proteínas aumenta (27). Finalizado el proceso de optimización se validó el resultado experimental realizando un ensayo confirmatorio utilizando la combinación óptima de las variables independientes, dando como resultado un rendimiento final de 76%.

Caracterización del aislado proteico de avellana

El objetivo de determinar las características físicas, composición química y las propiedades funcionales del APA, fue comprobar si estas características son apropiadas para ser incorporado en alimentos donde se desee aumentar la concentración de proteínas.

Características físicas

Densidad aparente

La densidad aparente del APA fue de 0,504 g/ cm³ propio de productos livianos y porosos, siendo este valor menor al reportado por Jonquera (28) para el concentrado proteico de avellana (CPA)= 0,626 g/ cm³.

Compactación

Cuando los sólidos son colocados en un recipiente, el volumen total ocupado tendrá una sustancial proporción de aire incrementado su volumen. La porosidad del material envasado se define como aquella fracción del volumen total que está ocupada por aire y es afectada por la geometría, tamaño y propiedades superficiales del producto (29). Terminado el proceso de compactación, el volumen inicial disminuyó un 43,4 %, resultado ligeramente inferior al reportado por Jonquera (28) de 52 % obtenido con el CPA. Cuando un producto tiene un valor alto de compactación, su transporte se facilita, ya que después de comprimirlo su volumen disminuye considerablemente.

Color

El color y la apariencia en general son los primeros

indicadores de calidad de los productos alimentarios. En este estudio se hizo una comparación del APA, con una muestra comercial de carne vegetal de soja (CVS) y datos de CPA reportados por Jonquera (28).

En cuanto al parámetro L^* , se puede apreciar que no existen grandes diferencias entre CPA y APA con valores de 77.37 y 79.03 respectivamente, caracterizados por poseer un brillo superior a CVS. Distinto es el comportamiento del parámetro a^* , ya que tanto el APA (5.12) como el CPA (2.55) se encuentran en la zona positiva con una tonalidad roja, mas intensa en el APA, mientras en la CVS (-2.1) su comportamiento es distinto por presentar una tendencia al verde (lado negativo). En cuanto al parámetro b^* tanto el tanto el APA (26.4) como el CPA (20.4) presentan una apariencia amarilla de tonalidad mas clara en el APA debido a la asociación de los parámetros a^* y b^* , donde predomina este último. Este hecho resulta de suma importancia, ya que se puede disimular de mejor forma la incorporación de este aislado proteico a productos que necesiten complementar su formulación.

Caracterización química

Análisis proximal

La Tabla 3 muestra los sucesivos cambios producidos en la manipulación de la semilla hasta la obtención del APA., destacando el incremento de la concentración de proteínas de 12% para la avellana a 76% para el APA y el incremento de fibra en CPA (21%) en la avellana para luego disminuir a un 0.7% en el APA así como la drástica disminución del contenido en aceite desde un 50% en el fruto a un 1,3% en el APA.

En cuanto al contenido de proteínas del APA existe mucha información en la literatura especializada en estos temas, así por ejemplo Cantoral et al (29) trabajando con haba y soja obtuvieron rendimientos entre 80 y 82% respectivamente, usando metodologías de liofilización y extracción alcohólica superiores al obtenido en el APA. También se puede citar los trabajos de Ulloa *et al* (3) que reportaron un 68% trabajando con garbanzos utilizando la técnica de ultrafiltración; 73% para el aislado proteico de lupino citado por López *et al* (30), 63% para aislado proteico de germen de maíz reportado por Dondero y Meneses (2) y 53% para concentrado proteico de girasol Bourgues et al (8). Respecto a los otros componentes que comprende el análisis proximal destaca la baja concentración de fibra cruda (0,68 %) en el APA. Esta información es

importante, por su influencia sobre el grado de aprovechamiento de este producto y su perfil de aminoácidos esenciales (10).

Propiedades funcionales

Las propiedades funcionales del APA, aislado proteico de raps (APR), aislado proteico de soja (APS) y aislado proteico de lupino (APL) se presentan en la Tabla 4.

Absorción de agua

La cantidad de agua asociada a las proteínas está estrechamente relacionada con su perfil de aminoácidos y aumenta con el número de cargas eléctricas de éstas, conformación o estructura, pH, temperatura, fuerza iónica y la concentración de proteína. La capacidad de absorción de agua del APA resultó ser comparable al APS y superior al APR y APL. Este comportamiento según lo expuesto por Pedroche J *et al.* (24) permite suponer que el APA es apto para ser usado en productos donde la retención de agua sea deseable como son carne, cecinas y productos lácteos.

Absorción de aceite

La capacidad de absorción de aceite del APA fue de 410 % valor superior al APR y APL, según Pedroche et al (24), pero inferior al APS (25). Por lo tanto los usos que se le pueden dar a este aislado son productos lácteos y embutidos.

Capacidad y estabilidad emulsificante

Con respecto a la capacidad emulsificante esta resultó ser de 54,35 % para el APA, valor inferior a la capacidad emulsificante reportada por Sathe *et al.* (26) para APL de 74,00 %, 70% reportado por Kinsella (25) para el APS y por Pedroche *et al.* (24) para el concentrado de raps (61,32 %). En cuanto a la estabilidad emulsificante en el APA fue de 42,93 %, valor ligeramente inferior a la estabilidad emulsificante del APR, APS (68,00 %) y APL (69,40 %).

Capacidad espumante

La capacidad de formación de espuma resultó ser de 21,59 % para el APA, expresado como porcentaje de incremento de volumen, siendo este valor fue muy superior al APR (21,50 %); APS (60%) y APL (58,00 %), valores reportados por Pedroche et al (25), Kinsella (25), y Sathe *et al.* (26), respectivamente.

Estabilidad espumante

El volumen de espuma del APA al cabo de 90 minutos de reposo disminuyó en un 19 %, valor superior al APL que bajo iguales condiciones de tiempo, la espuma disminuyó 7,6 % (26).

Capacidad de gelificación

Las proteínas son gelificantes más eficientes que los hidratos de carbono, porque son moléculas grandes capaces de formar redes tridimensionales (31). La gelificación se ve favorecida por el tamaño de las proteínas, la flexibilidad y la capacidad de las proteínas de desnaturalizarse, ya que para la formación de geles es deseable la parcial desnaturalización de estas, sin rompimiento de enlaces covalentes (32). El APA presentó gelificación a concentraciones de 14 % y 16 % (33) valores superiores a los reportados por Sathe *et al.* (26) para el APL con datos entre 8 y 12%.

CONCLUSIONES

La mejor combinación de las variables independientes para obtener el máximo rendimiento de aislado proteico de avellana fueron: tiempo entre 30 y 40 minutos, pH entre 9 y 9,5 y relación muestra/ solvente entre 1/15 a 1/16, con un rendimiento final de aislado proteico de 76%.

El trabajo experimental realizado permitió establecer que las variables tiempo de contacto con el solvente y la interacción relación muestra/ solvente – pH afectaron significativamente ($p < 0,05$) el rendimiento del aislado proteico.

Las propiedades físicas del aislado proteico de avellana, tales como color amarillo claro, baja densidad aparente ($0,604 \text{ g/cm}^3$) y alto grado de compactación (43,4%) son características que facilitan su incorporación a productos que necesiten complementar su formulación, ya que se puede disimular de mejor forma la incorporación de este aislado.

El aislado proteico de avellana es una buena alternativa para el mejoramiento de la calidad nutritiva de los alimentos, ya que presenta un aporte proteico de 76%, composición de aminoácidos esenciales y bajos contenidos de fibra (0,68%) y aceite (1,29%).

Entre las propiedades funcionales del aislado destacan absorción de agua (320 g/ 100 g), absorción de aceite (410 g/ 100 g), capacidad espumante (221,05%), capacidad emulsificante (54,32%) y geli-

ficación (14% y 16%), características que demuestran que el aislado puede ser utilizado en una gran variedad de productos.

Se demostró que el empleo de la Metodología Superficie de Respuesta es efectiva como estrategia de trabajo, obteniéndose resultados con reducidas corridas experimentales y en corto tiempo, factores que tienen un impacto significativo en los costos de los ensayos experimentales.

REFERENCIAS

1. Mera M, Von Baer E., Hazard S. Concentrados proteicos ¿Es posible sustituir importaciones?. Agro análisis. 2000; 196: 33- 36.
2. Dondero M, Meneses E. Obtención de un concentrado proteico a partir de germen de maíz. Rev. Alimentos. 1981; 6(3):19-24.
3. Ulloa JA, García Z, Valencia M. Obtención de un concentrado proteínico de garbanzo. (*Cicer arietinum*) obtenido por ultrafiltración. Arch. Latinoamer. Nutr. 1992; 42 (4): 428-431.
4. Del Valle J, Aguilera J. Extracción con CO₂ a alta presión. Fundamentos y aplicaciones en la industria de alimentos. Journal Science and Technology International. 1999; 5: 1-24.
5. Wills R. and Kabisullah M. Use of sunflower protein in sausages. J. Food Sci. 1981; 46 (3): 1653-1658.
6. Cruz O. and Hedrick H. Utilization of defatted sesame flour in fermented salami J. Food Sci. 1985; 50 (3):1117-1128.
7. Bourgues H, Morales de Leon J, Hernández R. Obtención de harina y un concentrado proteico a partir de semillas de girasol (*Helianthus annuus*) y su incorporación en galletas. Arch. Latinoamer Nutr. 1980; 30 (4):564-579.
8. Ashraf H., and Siandwazi C Evaluation of gingerbread cookies supplemented with sunflower protein concentrate. J. Food Sci. 1986; 51 (4):1102-1103.
9. INTEC. Recolección e Industrialización de Avellana Chilena., 1982 (Chile).
10. Villarroel M, Biolley E, Schneeberg R, Ballester D. Aminoacid composition of chilean hazel nut. Food Chem. 1987; 25: 155-159.
11. Villarroel M, Biolley E, Ballester D, Santibáñez S. Composición química de harina desgrasada de avellana. Arch. Latinoamer Nutr. 1989; 39 (2):200-211.
12. Gacula M. Statistical Methods in Food and Consumers Research. 1984. Academic Press. Inc., Florida, USA.
13. Montgomery, D. Design and analysis of experiments. 2001 5a ed. John Wiley&Sons, New York, USA.

14. A.O.A.C. Official Methods of Analysis of Association Analytical Chemists. 15 th Edition, 1990. Washington D.C.
15. Lowry OH, Rosebrough N. J., Farr, A. L. Y Randall, R. J. Protein measurement with Folin – phenol reagent. J. Biol. Chem. 1951;193: 265 – 275.
16. Alvarado L, Aguilera JM. Métodos para medir propiedades físicas en industrias de alimentos. 2001. Edit. ACRIBIA. Zaragoza, España.
17. Calvo C Atlas de color. Fundamentos y Aplicaciones. Revista Agroquímica. 1989; 29 (1):15-29.
18. Mendoza F., Aguilera J.M. Application of image analysis for classification of ripening bananas. J. Food Sc. 2004; 69 (9): 471-477.
19. Sosulski F. The centrifuge method for determining flour absorption in hard red spring wheats. Cereal Chemistry. 1962; 39: 344– 350.
20. Dench J., Rivas N., Caygill J. Selected functional properties of sesame (*Sesamun indicum*) flour in two protein isolates. Journal of Food Agriculture. 1980; 32: 557-558.
21. Naczk M. Diosady L. & Rubin L. Functional properties of canola meals produced by a two phase solvent extraction system. Journal of Food Sc. 1985; 50: 1685–1692.
22. Betschart A., Fong R., Hanamoto M. Safflower protein isolate. Functional properties in simple system and breads. J. Food Sc. 1979; 44 (4): 1022- 1032.
23. Coffman C, García V. Functional properties and amino acid content of protein isolated from mung bean flour. J. Food Techno. 1997; 12: 473-478.
24. Pedroche J, Yust M, Alaiz M. *Brassica carinata* protein isolates. Chemical composition, protein characterization and improvement of functional properties by protein hydrolysis. Food Chemistry. 2004; 88:337-341.
25. Kinsella J. Functional properties of soy protein. Journal of American Oils and Chemist Society. 1979; 561:242-258.
26. Sathe S, Desphande J, Salunkhe D. Functional properties of lupin seeds (*Lupinus mutabilis*) proteins and protein concentrates. J. Food Sci. 1982; 47 (1):491-497.
27. Moure A., Sineiro J., Domínguez H., Parajó J.. Functionality of oilseed protein products: A review. Food Research International. 2006; 39(9): 945-963.
28. Jorquera J. (1995). Obtención y Caracterización Química, Física, Biológica y Tecnológica de un Concentrado Proteico de Avellana. 1995 Trabajo para optar al título de Ingeniero en Alimentos. Universidad de la Frontera, Temuco, Chile.
29. Cantoral R, Fernández A, Martínez JA, Maracuya M. Estudio comparativo de la composición y el valor nutritivo de semillas y concentrados de proteínas de leguminosas. Arch. Latinoamer. Nutr. 1995; 45 (3):242-248.
30. López V, Aquino E, Soto S. Efecto de las características reológicas de tallarines fortificados con derivados del lupino. 2002. Instituto de Ciencias Agropecuarias. Universidad Autónoma. Estado de Hidalgo, México.
31. Lewis M. Propiedades físicas de los alimentos y de los sistemas de procesado. 1993. Editorial Acribia. Zaragoza, España.
32. Kato A., Nakai S. Hydrophobicity determined by a fluorescent probe method and its correlation with surface properties of proteins. Biochemical et. Biophysical Acta. 1980; 624(1): 13 –20.
33. Oakenfull, D., Pearce, J, Burley, R. Protein gelation. Food proteins and their applications. 1997; 111–141. New York.

Recibido: 07-07-2011

Aceptado: 13-01-2012

Native black Michuñe potato variety: characterization, frying conditions and sensory evaluation

M. Rubilar, M. Villarroel, M. Paillacar, D. Moenne-Loócz, C. Shene, E. Biolley, F. Acevedo

Center of Food Biotechnology and Bioseparations, BIOREN. Agriaquaculture Nutritional Genomic Center, CGNA. Technology and Processes Unit. Department of Public Health. Universidad de La Frontera, Chile.

SUMMARY. The aim of this study was to evaluate the chemical and nutritional composition, to establish frying processing conditions and to determine the sensory profile and acceptability of Black Michuñe (BM) potato chips. BM had a higher protein content, half the ether extract content and nitrogen-free extract, a lower caloric intake (70 kcal/100g) and amylose content (17.5%) than Desirée (DES). To set the frying conditions, the Taguchi method was applied using a matrix design L_9 ($3^2, 2^2$). The variables studied were: temperature, time, potato variety (raw material) and pretreatment. The responses evaluated were: the color difference as well as the content of reducing sugars and total polyphenols. The best frying conditions were BM with a pretreatment at 160°C for 7 min for color, DES without pretreatment at 140°C for 7 min for reducing sugar content, and BM without pretreatment at 180°C for 4 min for polyphenol content. Then, sensory profiles of potato chips from BM, DES and a commercial package were determined by selecting the descriptors texture, firmness, color, salty taste and oiliness. Significant differences in color and oiliness were found. Finally, the acceptability test was applied to BM potato chips where color (64%) was the only attribute not as accepted as texture (95%), salty taste (87%) and product (97.3%). This study demonstrated that BM potato chips have a satisfactory acceptability by consumers

Key words: Black Michuñe potato variety, frying conditions, sensory evaluation.

RESUMEN. Papa nativa variedad Michuñe negra: caracterización, condiciones de fritura y evaluación sensorial.

El presente trabajo tiene por objetivo evaluar la composición química y nutricional de papa Michuñe negro (BM), establecer condiciones de proceso de fritura, determinar el perfil sensorial y aceptabilidad de papas fritas chips. BM presentó un mayor contenido proteico, la mitad de extracto etéreo y extracto libre de nitrógeno, una menor ingesta calórica (70 kcal/100g) y un menor contenido de amilosa (17,5%) comparada con la variedad Desirée (DES). Para establecer condiciones de fritura se utilizó metodología Taguchi empleando una matriz de diseño L_9 ($3^2, 2^2$). Las variables seleccionadas fueron: temperatura, tiempo, variedad de papa (materia prima) y pretratamiento. Las respuestas evaluadas fueron: diferencia de color, contenido de azúcares reductores y polifenoles totales. Las mejores condiciones de fritura fueron: BM con pretratamiento a 160°C por 7 min para color, DES sin pretratamiento a 140°C por 7 min para azúcares reductores y BM sin pretratamiento a 180°C por 4 min para polifenoles totales. Luego, los perfiles sensoriales de las papas chips de BM, DES y comercial fueron determinados seleccionando los descriptores textura, firmeza, sabor salado y aceitoso. Se encontraron diferencias significativas en los descriptores color y aceitoso. El color (64%) fue el único atributo que obtuvo un nivel de aceptación más bajo entre los otros como textura (95%), sabor salado (87%) y producto (97.3%). Este estudio demostró que los chips de BM fueron satisfactoriamente aceptados por los consumidores.

Palabras clave: Variedad papa Michuñe negro, condiciones de fritura, evaluación sensorial.

INTRODUCTION

In Chile, potato is the country's fourth most important crop and a dietary staple (1). The Isla Grande de Chiloé, located in the southern part of Los Lagos Region, is considered one of the sub-centers of origin for potato due to the many findings of native varieties, which were very useful for creating new potato varieties (2). Native potato tubers show a wide variability in tuber shape, flesh and skin color, texture, sizes, fla-

vor, and phenological characteristics (3). They have recognized attributes of flavor and red/blue color due to the presence of such antioxidants as anthocyanins, characteristic compounds of vegetal products. Michuñe, Guadacho, Lobo, Murta, Pachaconas are native varieties, among many others. In addition, a wide variety of potatoes cultivated in Chile such as Desirée, Yagana, Asterix, Baraka, etc. have been introduced from European countries or North America.

According to Miranda and Aguilera (4), potato chips and derivatives represent 12% of the market in the main products of potato processing. Frying is a widely used method for cooking that creates unique textures and flavors in foods. Among potato sub-products, potato chips are a high consumption food for their characteristics of flavor, aroma, crunchy texture, and increased palatability afforded by the frying process (5).

During frying, the original structure of raw potato undergoes transformations that will determine the quality attributes of the final product such as oil content, crispness, roughness, porosity. In turn, these structural changes depend on the processing conditions of potato prior to being fried and on frying conditions (e.g. pretreatment, temperature, time).

Apart from the sensory benefits of heat treatments like potato frying, it has been shown that these heat processes can also induce undesirable color changes largely produced by the Maillard reaction (6). In this context, it is necessary to control the reaction factors.

Among the different physical properties of foods and food products, color is considered an important visual attribute in the perception quality of a product. Potato chip color is a vital criterion for industrial potato processing and is strictly related to consumer perception. Among the sensory potato attributes highlighting texture, aroma, flavor, color, texture is considered the most important. Several methodologies been used to describe these sensory properties, among which Quantitative Descriptive Analysis is the best known (7, 8, 9), as it provides the sensory profile of a product, assigning intensity values for each selected feature.

The aim of this study was to evaluate the chemical and nutritional composition of the black Michuñe variety, to establish frying process conditions, to contribute to the knowledge of the sensory characteristics of the black Michuñe variety by producing the sensory profile, and to determine the acceptability of potato chips.

MATERIALS AND METHODS

Sample preparation

The native Black Michuñe (BM) from Chiloé,

Chile (Fig 1), the white flesh potato Desirée (DES), and commercial packaged potato chips were used as raw material. The samples were supplied directly from the harvest area located on Chiloé Island. Both the black Michuñe and white-fleshed Desirée potatoes were selected by discarding units with possible phytosanitary problems. The commercial product was purchased in the local market. Then, the selected potatoes were hand-peeled, washed and finely cut with an electric mill AFK Germany Model AS-150 between 2.0 to 3.0 mm thick. For the frying process, an electric fryer fitted with a thermocouple was used.

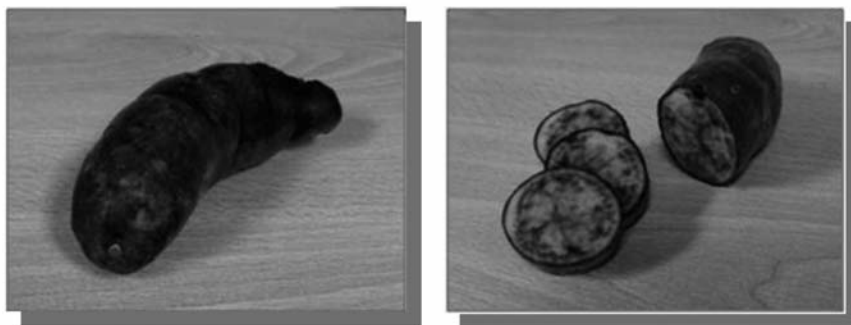


FIGURE 1.
Native black Michuñe potato variety from the Chiloé Island.

Chemical and nutritional analysis

In order to characterize the raw material, a proximal analysis was performed on samples of fresh native potatoes. Moisture, ash, protein, ether extract, crude fiber and nitrogen-free extract were measured in samples of fresh native potato samples according to AOAC standard procedures (10). In order to determine the caloric intake of the black Michuñe potato, the percentage of proteins, carbohydrates and ether extract was calculated using Atwater coefficients.

Determination of amylose and total starch

To determine the amylose content in black Michuñe potato, a megazyme amylose/amylopectin assay procedure utilizing a commercial kit (Megazyme Ireland International, Ltd., Bray, Ireland) was performed according to the manufacturer's recommendations. This method applies a procedure based on the specific precipitation of amylopectin by concanavalin-A lectin. Amylose content is expressed as a percentage of total sample starch. The total starch was determined by measuring the total glucose after digestion with thermostable α -amylase and amyloglucosidase enzymes.

Frying process conditions

Slices of both potato varieties were subjected to an immersion pretreatment in a 1% citric acid solution for 40 minutes in order to reduce enzymatic browning. An electric fryer with commercial sunflower oil was used to perform the chip frying, with a slice:oil ratio of 1:20. The frying temperatures ranged from 140°C to 180°C for 4 and 10 min. These conditions were evaluated applying an experimental design.

Design of experiments

The Taguchi methodology was used, as this can work simultaneously with several control factors. This method uses the so-called orthogonal arrays corresponding to an experimental design, which allows a mathematical evaluation independent of the effect of each factor in the design (11). The independent variables were temperature (T) (140, 160 and 180°C), time (t) (4, 7 and 10 minutes), potato variety (BM and DES) or raw material (RM), and pretreatment (PT) (immersion in citric acid). For this study, a matrix design $L_9(3^2, 2^2)$ was used, where the subscript 9 corresponds to the number of experimental runs and the superscript represents the controlling factors.

The analysis of the quality response averages for each experimental run was carried out for studying the "smaller is better" characteristic for a color change, and "greater is better" for the case of reducing sugars and total polyphenols. The average for level of each factor and the variance analysis were then calculated using Qualitek-4 software. The average magnitude difference of the response for each factor level was determined in order to calculate the inclination slope so as to estimate the impact of each factor on the response and determine the optimal response theoretical equation (OTE). Finally, a confirmatory test was applied.

Color determination

To determine the potato chip color, a crushed sample was spread evenly over a miniplate, placed to capture the image inside a chamber isolated from natural light and analyzed using Adobe Photoshop software to determine the parameters $L^* = L/255$, $a^* = (240a/255) - 120$, $b^* = (240b/255) - 120$, where L: gives a luminance or brightness value of the sample, a: shows the variation area between red and green of the spectrum, b: refers to the variation area between yellow and blue of the spectrum (12).

The color change ΔE was determined from the value $\Delta E^* = \sqrt{((\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2)}$ (eq. 1)

Determination of reducing sugars

An aqueous extract was obtained using a 2 g sample, which was centrifuged by removing the supernatant containing reducing sugars. A calibration curve was prepared using 20 mg/L glucose as standard. An aliquot of the sample (1 mL) was added to 1 mL of 2,5-dinitrosalicylic acid (DNS) and boiled for 5 min (13). Then the sample was diluted with 5 mL of distilled water and measured in a spectrophotometer (Thermo Genesys model 6) at 540 nm. The samples were run in triplicate.

Determination of total polyphenols

Total phenolic content was determined by its reaction with Folin–Ciocalteu (FC) reagent (Fluka, Japan), according to the method reported by Velioglu et al. (14). Briefly, 200 microliters from the methanolic extract were mixed with 1 mL of Folin–Ciocalteu reagent and 0.8 mL of Na_2CO_3 (60 g/L) (Sigma-Aldrich, Germany) solution was added to the mixture. After heating for 15 min at 45 °C in a water bath (MSH-10 Daih Scientific), the absorbance of samples was measured at 765 nm (Genesys 6, Thermo Scientific, USA). Results were expressed as gallic acid (Sigma-Aldrich, Germany) equivalent per gram of dry matter (mg GAE/g d.m.). The measurement was carried out three times.

Sensory profile

For the sensory sample evaluation, the Quantitative Descriptive Analysis (QDA) was measured using unstructured descriptive analytical scales 85 mm long. The generation of descriptors (texture, firmness, color, salty and oily taste) as well as the manner for evaluating them took place in open panel sessions during the training panel. At the same time, discriminatory capacity was found by assessing their reproducibility. In particular, firmness was determined by manipulating the sample to evaluate whether it maintained its structure or disintegrated easily. With respect to the oily characteristic, the remaining oil residue on the hand was determined.

Consumer acceptability test

To perform the acceptability test, four parameters

were selected: salty taste, color, crunchy texture and product. The acceptability of each parameter was measured by means of the hedonic test (7) using a five-point scale with ends: I dislike it very much and I like it very much. In this trial, eighty-five consumers participated.

Statistical data analysis

The data were analyzed using analysis of variance (ANOVA) and the significant mean difference was determined with Duncan's multiple comparison test ($p \leq 0.05$).

RESULTS

Characterization of black Michuñe potato

The chemical and nutritional composition of the native BM variety was compared with the standard white-fleshed DES potato variety, as shown in Table 1.

From these values, the protein content of the BM (6.8%) highlights that this doubles the protein content of a standard potato, whereas the nitrogen-free extract (NFE) in BM is 10%. This value is less than the standard potato content corresponding to 16% (15). According to these results, the variety from Chiloé Island presented a lower carbohydrate content than the standard potato. In addition, the amylose percentage in BM was slightly lower, reaching 17.5% compared with 22.0% of the DES. The value obtained for energy intake (70 kcal/100g) was lower than the value for a standard potato.

TABLE 1.
Chemical and nutritional composition of black Michuñe and white-fleshed Desirée potatoes.

Parameter (g/100 g)	Black Michuñe potato	White-fleshed Desirée potato
Moisture	77.12	75.33
Ash	4.77	1.10
Proteins	6.86	2.53
Crude fiber	0.68	0.26
Ether extract	0.03	0.06
Nitrogen-free extract	10.54	20.72
Amylose	17.5	22.0
Energy (Kcal/100g)	69.86	93.54

Effect of frying conditions on color change in potato chips

For color, the criterion "less is better" was used, i.e. less color change is the best response. BM with a pretreatment at 160°C for 7 min of frying (design point 5) presented the best frying conditions obtained with a ΔE of 8.18 (Table 2). ANOVA showed that the factors T, t and RM were significant ($p < 0.05$), contributing 87.41% of the variation, where the temperature conditioned the response robustness of 56.26%.

Effect of frying conditions on the reducing sugar content in potato chips

For reducing sugar content, the criterion "more is better" was used. The best frying conditions were obtained using a standard potato without pretreatment at 140°C for 7 min (design point 2) reaching 0.97 mg of glucose/g d.m. (Table 2). The variables T, t and RM significantly affected the response ($p < 0.05$), providing together 95.79% and conditioning the response robustness of 89.65%.

Effect of frying conditions on the polyphenol content in potato chips

For the evaluation of the effect of frying conditions on the polyphenol content in BM and DES potato chips, the criterion "more is better" was used, i.e. higher polyphenol content after the frying process is better. Thus, the best combination of design factors were found in the BM variety without pretreatment at 180°C for 4 min of frying and reached 2.57 mg GAE/g d.m. (design point 7) (Table 2).

ANOVA showed that the RM, T and PT variables were significant ($p < 0.05$) providing together 85.75%. These variables determined a response robustness of 84.61%.

Sensory Profile

In texture and firmness, the samples showed a similar intensity degree without significant differences ($p \leq 0.05$) among the samples (Table 3).

On the subject of firmness, a similarity was observed in results cataloging samples as resistant to manipulation without presenting signs of fragility. The salty taste perception was similar in BM samples and in the commercial product with an appropriate degree of intensity, which differed significantly from the DES variety.

As for the color, values obtained in DES and commercial samples were significantly higher than those found in the BM as both were characterized by a yellow color.

TABLE 2
Orthogonal arrays L₉ (3², 2²) and responses of Color, Reducing Sugar Content and Total Polyphenols obtained for frying processing conditions

Design Point	Independent variables				Color (ΔE)	RSC (mg glucose/g d.m.)	TP (mg GAE/g d.m.)
	T	t	RM	PT			
1	1	1	1	1	9.35±0.12	0.71±0.09	2.15±0.05
2	1	2	2	2	10.36±2.85	0.97±0.01	1.54±0.13
3	1	3	1	1	8.91±1.26	0.64±0.02	1.85±0.05
4	2	1	2	1	13.32±0.91	0.7±0.01	0.61±0.02
5	2	2	1	1	8.18±0.30	0.54±0.01	1.37±0.71
6	2	3	1	2	14.91±2.26	0.27±0.05	2.42±0.17
7	3	1	1	2	13.87±1.06	0.43±0.003	2.57±0.14
8	3	2	1	1	15.65±3.95	0.41±0.02	2.52±0.01
9	3	3	2	1	29.38±1.58	0.42±0.001	1.93±0.09

T: temperature, t: time, RM: Raw Material, PT: Pretreatment RSC: Reducing Sugar Content

TABLE 3
Value averages (mm) of descriptors per sample. Means with different letter (a, b) indicate significant differences between potato varieties, according to the Duncan's test at 0.05 significance.

Descriptor	Black Michuñe variety	Desirée variety	Commercial potato
Texture	78 ^(a)	78 ^(a)	81 ^(a)
Firmness	81 ^(a)	74 ^(a)	72 ^(a)
Salty	69 ^(b)	62 ^(b)	77 ^(a)
Color	22 ^(b)	66 ^(a)	74 ^(a)
Oiliness	12 ^(b)	16 ^(b)	40 ^(a)

The perception of oily potato chips was evident in the three samples, with the presence of residual oil in products of BM and DES varieties being more marked than in the commercial sample.

Acceptability Test

To find out if the variety of BM potato chips gratifies consumer expectations or not, an acceptability test was performed separately analyzing color, texture, salty taste and the product (Fig. 2).

a) Color

The result of the consumer survey was 64% for the sum of the scores: I like it a lot, I like it and I am indifferent, compared with 36% of the ratings made by: I dislike it, I dislike it a lot. This attribute must be taken into account because color is one of the

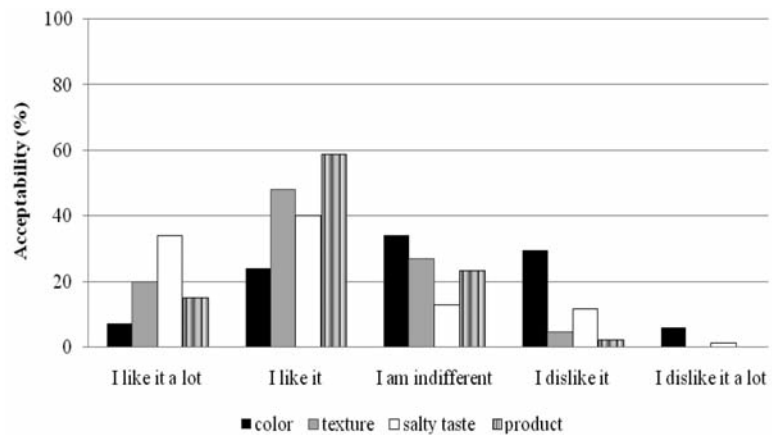


FIGURE 2
Acceptability results of the studied characteristics in black Michuñe potato chip variety.

most important quality parameters valued by consumers in this type of product.

b) Texture

In connection with this descriptor, the results were significantly better for BM potato chips as the acceptability reached 95%.

c) Salty taste

A low percentage of consumers (13%) rejected the product for its salt content, while 87% of consumers accepted it.

d) Product

The BM potato chip was very well accepted by consumers based on several characteristics. Only 2.7% of consumers said they disliked the product compared with 97.3% of favorable responses.

DISCUSSION

The results of the amylose percentage found in BM (17.5%) and DES (22.0%) are similar to those reported in the literature. (16, 17). A high amylose content is supposed to be favorable in foods such as potatoes. The presence of high levels of amylose may enhance the functionality of starch, e.g. its film-forming ability (18, 19). In addition, Hu et al. (20) reported that the amylose/amylopectin ratio is generally 20/80. However, an increased amylose content also increases the resistant starch content, as amylose is not completely digested by digestive enzymes. Therefore, not all carbohydrates rich in amylose are used by the organism. Consequently, an increase in amylose content could contribute to a reduction in the glycemic index.

The value obtained for energy intake was 25% less for BM than for DES. Considering that one of the greatest public health problems nowadays is the obesity caused by an inappropriate diet with an increased intake of high-calorie foods, BM represents a nutritious and healthy alternative that could be incorporated into everyday foods.

The evaluation of the effect of frying conditions on the color change in BM and DES potato chips variety made it possible to obtain the best combination of frying conditions.

The fried potato chip color is an important parameter to be controlled during the transformation process. Fried potatoes with a noticeable color change are the result of the Maillard reaction, which depends on the content of reducing sugars, amino acids or proteins in the surface, on the temperature and on the frying time (21).

The DES potato chip obtained the best response with regard to the effect of frying conditions on the reducing sugar content. This fact should be explained because the black Michuñe potato has a lower initial reducing sugar content and it is therefore also lower after frying.

The reducing sugar content is an important parameter to measure, since this is a precursor to the formation of the Maillard reaction, and a substantive change in the reducing sugars would indicate that the reaction had occurred. A higher content of reducing sugars remaining after frying is better as this indicates that this precursor has not been used during the Maillard reaction.

Polyphenols are secondary metabolites widely

known to have antioxidant activity. Polyphenols processed at high temperatures tend to decrease because some of them are thermolabile. For this reason, it was important in this study to evaluate the total polyphenol content in native potatoes after a frying process. When comparing the total polyphenol content in both potato varieties after the frying process, BM showed the highest value. Vatterm and Shetty (22) observed the increasing polyphenol content in potato chips after the frying process. These authors explained that the polyphenol content increase may be because a high temperature would lead to a pyrolysis of phenolic compounds present in the vegetable cell wall.

The lower values obtained in color of the BM compared with DES and commercial samples could be explained by the chemical composition of potato from Chiloé Island, which has a blue/reddish color due to the polyphenol presence in this variety.

The presence of increased residual oil in BM and DES products compared with the commercial sample may be attributed to the non-commercial frying process for BM and DES. According to the results of the acceptability test, BM was properly accepted by consumers, and color was the only attribute that produced a certain level of rejection.

CONCLUSIONS

Chemical analysis in native BM potato showed differences to standard white-fleshed potato DES, mainly in the protein content and NFE. In the blue BM variety, potato chips were obtained with less of a color change, a lower reducing sugar content and a higher polyphenol content, where the potato variety, temperature and frying time significantly influenced the responses ($p < 0.05$).

The sensory profile was determined for BM potato chips using QDA, and an analysis of variance was carried out. Significant differences in color and oily descriptors were found, and the results of this study demonstrated that BM potato chips have a satisfactory acceptability, with color being the only descriptor that causes a certain rejection due to the presence of reddish blue shades.

ACKNOWLEDGEMENTS

Authors acknowledge the financial support given

by Project DI08-0032 and GAP 2009, Dirección de Investigación at Universidad de La Frontera.

REFERENCES

- Pedreschi F, Trivisani X, Reyes C, Troncos E, Pedreschi R. Kinetics of extraction of reducing sugar during blanching of potato slices. *J Food Eng.* 2009;91:443-447.
- Soto Y. Estudio exploratorio de aceptación de mercado para 6 variedades de papa chilota (*Solanum tuberosum L.*) en la ciudad de Temuco, IX Región. Trabajo para optar al título de Ingeniero Agrónomo, Universidad Católica de Temuco, Temuco; 2004.
- Solano J, Morales D, Anabalón L. Molecular description and similarity relationships among native germplasm potatoes (*Solanum tuberosum ssp. tuberosum L.*) using morphological data and AFLP markers. *Electronic J Biotechnol.* 2007;10:436-443.
- Miranda M, Aguilera JM. Structure and texture properties of fried potato products. *Food Res Int.* 2006;22:173-201.
- Pedreschi F, Moyano P. Effect of pre-drying on texture and oil uptake of potato chips. *LWT-Food Sci Technol.* 2005;38:599-604.
- Pedreschi F, Bustos O, Mery D, Moyano P, Kaack K, Granby K. Color Kinetics and acrylamide formation in NaCl soaked potato chips. *J Food Eng.* 2007;79:989-97.
- Wittig de Penna E. Evaluación Sensorial. Una metodología actual para la Tecnología de Alimentos. Talleres Gráficos, USACH, Santiago, Chile; 1981.
- Stone H, Sidel JL. Sensory Evaluation Practices, 2th ed., Academic Press Inc., San Diego; 1993.
- Montouto-Graña M., Fernández-Fernández E., Vázquez-Oderiz ML., Romero-Rodríguez, MA. Development of a sensory profile for the specific denomination Galician potato. *Food Qual Pref.* 2002;13:99-106.
- A.O.A.C. Official methods of analysis of association of official analytical chemists. 15th Edition. Washington DC; 1990.
- Roy, R. A primer on the Taguchi Method. Society of manufacturing Engineers. Dearborn, Michigan USA; 1990
- Pedreschi F, Leon J, Mery D, Moyano P, Pedreschi R, Kaack K, Granby K. Color development and acrylamide content of pre-dried potato chips. *J. Food Eng.* 2007; 29:786-93.
- Miller GL. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Anal Chem.* 1959;31:426-8.
- Velioglu YS, Mazza G, Gao L, Oomah BD. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. *J Agric Food Chem.* 2006;46: 4113-7.
- Schmidt-Hebbel H, Pennacchiotti I, Masson L, Mella MA. Tabla de composición química de alimentos chilenos. 8^a edición. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Departamento de Ciencias de los Alimentos y Tecnología Química, Universidad de Chile, Santiago de Chile; 1990.
- Talja RA, Peura M, Serimaa R, Jouppila K. Effect of amylose content on physical and mechanical properties of potato-starch-based edible films. *Biomacromolecules.* 2008;9:658-63.
- Cisneros F, Zevillanos R, Cisneros L. Characterization of starch from two ecotypes of Andean Achira Roots (*Canna edulis*). *J Agric Food Chem.* 2009;57:7363-8.
- Lourdin D, Della Valle G, Colonna P. Influence of amylase content on starch films and foams. *Carbohydr Polym.* 1995;27:261-70.
- Rindlav-Westling A, Stading M, Hermansson A-M, Gatenholm P. Structure, mechanical and barrier properties of amylose and amylopectin films. *Carbohydr Polym.* 1998;36:217-24.
- Hu P, Zhao H, Duan Z, Linlin Z, Wu D. Starch digestibility and the estimated glycemic score of different types of rice differing in amylase content. *J Cereal Sci.* 2009;40:231-7.
- Pedreschi F, León J, Mery D, Moyano P. Development of a computer vision system to measure the color of potato chips. *Food Res Int.* 2006;39:1092-8.
- Vattem D, Shetty K. Acrylamide in food: a model for mechanism of formation and its reduction. *Innov Food Sci Emerg Technol.* 2003;4:331-338.

Recibido: 21-07-2011

Aceptado: 08-01-2012

NOTAS NECROLOGICAS

Juan Claudio Sanahuja 1921 - 2012



Juan Claudio Sanahuja nació en Buenos Aires, Argentina y realizó sus estudios universitarios en la Escuela de Farmacia y Bioquímica, dependiente de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad de Buenos Aires. Egresó como Farmacéutico en 1942 y Bioquímico y Dr. en Bioquímica y Farmacia en 1945, con Medalla de Oro, permaneciendo como docente e investigador en la Cátedra de Bromatología de la Facultad de Farmacia y Bioquímica, de la Universidad de Buenos Aires, UBA.

Fue Becado por CONICET en 1960-1961 para realizar estudios de Nutrición en Wisconsin (EE.UU.), siendo coautor de trabajos relevantes acerca del desequilibrio de aminoácidos y desnutrición Proteico-Calórica, tema de gran interés en aquel momento. Regresó a Buenos Aires cuando la Escuela de Farmacia y Bioquímica se había constituido en Facultad, en la cual se hizo cargo de la Cátedra de Bromatología. Como Profesor Titular de Bromatología, gestionó la creación del Departamento de Bromatología y Nutrición Experimental, que se concretó en 1964. Ejerció la dirección del nuevo Departamento donde se constituyeron en forma independiente las Cátedras de Bromatología y la de Nutrición con su cuerpo propio de Profesores y personal docente, incorporando la asignatura Nu-

trición en los planes de estudio de Farmacia y de Bioquímica.

La Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UBA, por su iniciativa fue la primera en el país que incluyó Nutrición en los planes de estudio de las Carreras de Farmacia y de Bioquímica, así como las Residencias Bioquímicas en Nutrición y en Bromatología y la prestación de servicios en Nutrición y Bromatología.

Constituyó un grupo de trabajo con jóvenes profesionales que continuaron bajo su dirección las investigaciones iniciadas en Wisconsin. Dirigió numerosas Tesis doctorales de los docentes e investigadores que luego continuaron su trayectoria científica en el país y en el exterior, extendiendo la línea de investigación en Nutrición Experimental a la investigación clínica en el área de recuperación nutricional de niños desnutridos y de Evaluación bioquímica del estado nutricional. Muchos de sus discípulos continuaron con los trabajos de docencia e investigación en el país y en el exterior, promoviendo la inclusión de los estudios de Bioquímica nutricional en los planes de estudio de las carreras de Farmacia y de Bioquímica de diversas Universidades Nacionales.

Fue Decano de la Facultad de Farmacia y Bioquímica en 1979-1983 y ocio emérito y fundador de la Sociedad Latinoamericana de Nutrición (SLAN), ejerciendo su Presidencia en 1981-1982. Participó activamente en los foros académicos de la región involucrados con la salud y la nutrición, desde aspectos relacionados con la producción de alimentos, su tecnología, hasta la clínica y la epidemiología nutricional, incluyendo aspectos de salud pública. Fue Presidente emérito y socio fundador del Capítulo Argentino de la Sociedad Latinoamericana de Nutrición (CASLAN), creada en 1976, Miembro del Directorio de CONICET (PK) (1980-1983) y del New York Academy of Sciences de EE.UU. Recibió premios a trabajos sobre proteínas y aminoácidos en nutrición, sobre Bromatología y el Premio Konex 1983: Bromatología, Nutrición y Tecnología de Alimentos.

Se incorporó como miembro de número de la Academia Nacional de Farmacia y Bioquímica, siendo Presidente en el período 2002– 2004. Desde la Academia promovió la importancia de las Academias Nacionales y fue designado Miembro de la Academia Real de Madrid, de Cataluña, Chile y

Perú y Presidente de Honor de las Academias Iberoamericanas de Farmacia.

Tuvo la visión de la importancia de la Nutrición en la Tecnología de Alimentos y logró la creación de la Licenciatura en Industria Alimentaria, como especialización de postgrado. Dicha carrera fue sustituida en 1994, por la actual Maestría en Bromatología y Tecnología de la Industrialización de los Alimentos, carrera compartida con la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la UBA.

La Facultad de Farmacia y Bioquímica le debe el inicio de las líneas de Investigación de las Cátedras de Bromatología y de Nutrición que tienen continuidad y siguen llevándose a cabo en el ámbito de la UBA y de otras Universidades Nacionales. Sus discípulos le deben el agradecimiento de haberles inculcado el interés por la docencia y la investigación dentro de los conceptos éticos y morales que marcaron su trayectoria y esperamos que las jóvenes generaciones puedan continuar su trayectoria bajo los mismos criterios.

Maria Luz Pita Martín de Portela

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 sobrepasará 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: UNIFORM REQUIREMENTS FOR MANUSCRIPTS SUBMITTED TO BIOMEDICAL JOURNALS: WRITING AND EDITING FOR BIOMEDICAL PUBLICATION**. Updated October 2008. Para una lectura completa de esta versión, los autores deben acudir al siguiente sitio: <http://www.icmje.org>

6to. Premio Latinoamericano *Kellogg's* de Investigación en Alimentación y Nutrición Humana

PREMIOS

- Categoría Profesional:
US \$6,500.00
- Categoría Estudiante:
US \$3,500.00

Podrán participar investigadores y estudiantes que hayan realizado tesis y/o trabajos relacionados con la Alimentación y la Nutrición Humana en cualquier Institución de América Latina.

Fecha límite de entrega:
31 de agosto de 2012

El premio se entregará durante el XVI Congreso Latinoamericano de Nutrición a celebrarse del 11 al 16 de noviembre de 2012 en La Habana, Cuba.

www.slancuba.com
www.insk.com

