

Archivos Latinoamericanos de Nutrición

Organo Oficial de la
Sociedad Latinoamericana de Nutrición

VOL 60

SEPTIEMBRE 2010

Nº 3

Contenido

Páginas

ARTICULOS GENERALES

Alimentos autóctonos de las comunidades indígenas y afrodescendientes de Colombia

Ximena Rivas Abadía, Sonia Carolina Pazos, Silvana Katerin Castillo Castillo, Helena Pachón 211

PERSPECTIVA

Estado nutricional, estilo de vida e riesgo cardiovascular de ovolactovegetarianos e onívoros

Keila Fernandes Dourado, Florisbela de Arruda Câmara e Siqueira Campos, Hernando Flores Rojas, Shirley Kelly dos Santos Simões, Leonardo Pereira de Siqueira 220

TRABAJOS DE INVESTIGACION

Nutrición Humana

Consumo alimentar e concentrações intra-eritrocitárias de folato em mulheres do Recife, Nordeste do Brasil

Janaina Almeida Dantas, Alcides da Silva Diniz e Ilma Kruze Grande de Arruda 227

Influência da idade gestacional e da paridade sobre a concentração de retinol no colostro humano

Roberto Dimenstein, Juliana Cristina de Oliveira Dantas, Ana Caroline Perez Medeiros, Lahyana Rafaella de Freitas Cunha 235

Nutrición Experimental

- Estimación de la masa grasa por DXA y el modelo de cuatro compartimentos en púberes mexicanos de 9 a 14 años**
Erik Ramírez, Mauro E. Valencia, Silvia Y. Moya Camarena, Heliodoro Alemán-Mateo, Rosa O. Méndez 240

Consumo de Alimentos

- Factores asociados al consumo de frutas y verduras en Bucaramanga, Colombia**
Edna Magaly Gamboa Delgado, Nahyr López Barbosa, Gloria Esperanza Prada Gómez, José Tomás Franco Cadena, Ariel Landínez Navarro 247

Microbiología de Alimentos

- Detección de *Listeria monocytogenes* en queso blanco criollo, mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR)**
Luis Guillermo Ramírez Mérida, Alba Morón de Salim, Ana Yudith Alfieri Graterol, Orlando Gamboa 254
- Avaliação físico-química e microbiológica do leite UHT comercializado em três países do Mercosul (Brasil, Argentina e Paraguai)**
Domareski Jackson Luiz, Bandiera Nataly Simões, Sato Rafael Tamostu, Aragon-Alegro Lina Casale, Santana Elsa Helena Walter de 261

Ciencia de Alimentos

- El glaseado incorporando hidrocoloides como alternativa en el empaque de lomo de atún (*Thunnus thynnus*) congelado y almacenado a -10°C**
Sarahi Mena, Leonardo Rodríguez y Marinela Barrero 270
- Effect of processing and storage time on the vitamin C and lycopene contents of nectar of pink guava (*Psidium guajava* L.)**
Luis E. Ordóñez-Santos and Andrea Vázquez-Riascos 280

Tecnología de Alimentos

- Bebida mista à base de goiaba (*Psidium guajava* L.) e palma forrageira (*Opuntia ficus-indica*): desenvolvimento e aceitabilidade**
Rita Débora de Sá Rodrigues Batista, Robson Alves da Silva, Tatiane Menezes Brandão Teresinha Rodrigues Veloso, Josyanne Araújo Neves, Débora Nascimento e Santos 285
- Barras de amaranto enriquecidas com frutanos: aceitabilidade e valor nutricional**
Vanessa Dias Capriles, José Alfredo Gomes Arêas 291

LatinFoods. Composición de Alimentos

- Folate content and retention in selected raw and processed foods**
Bassett, M.N. and Sammán, N.C. 298
- Composición en ácidos grasos de alimentos de alto consumo por la población escolar de la región Metropolitana de Chile, incluyendo contenido en ácidos grasos trans**
Zamorano M., Llanquín P., Montealegre R. 306
- NOTAS NECROLOGICAS** 312
- INFORMACION PARA LOS AUTORES** 314

Archivos Latinoamericanos de Nutrición

Official Publication of the
Latin American Society of Nutrition

VOL 60

SEPTEMBER 2010

Nº 3

Contents

Pages

GENERAL ARTICLES

Foods native to indigenous and afro-descendants in Colombia

Ximena Rivas Abadía, Sonia Carolina Pazos, Silvana Katerin Castillo Castillo, Helena Pachón 211

PERSPECTIVE

Nutritional status, lifestyle and cardiovascular risk in lacto-ovo vegetarians and omnivores

Keila Fernandes Dourado, Florisbela de Arruda Câmara e Siqueira Campos, Hernando Flores Rojas, Shirley Kelly dos Santos Simões, Leonardo Pereira de Siqueira 220

RESEARCH PAPERS

Human Nutrition

Folate food intake and red blood cell folate concentrations in women from Recife, Northeast of Brazil

Janaina Almeida Dantas, Alcides da Silva Diniz e Ilma Kruze Grande de Arruda 227

Influence of gestational age and parity on the concentration of retinol in human colostrums

Roberto Dimenstein, Juliana Cristina de Oliveira Dantas, Ana Caroline Perez Medeiros, Lahyana Rafaella de Freitas Cunha 235

Experimental Nutrition

Estimation of body fat by DXA and the four compartment model in Mexican youth

Erik Ramírez, Mauro E. Valencia, Silvia Y. Moya Camarena, Heliodoro Alemán-Mateo, Rosa O. Méndez 240

Food Consumption

Associated factors to dietary intake of fruits and vegetables in Bucaramanga, Colombia

Edna Magaly Gamboa Delgado, Nahyr López Barbosa, Gloria Esperanza Prada Gómez, José Tomás Franco Cadena, Ariel Landínez Navarro 247

Food Microbiology

Detection of *Listeria monocytogenes* in white cheese by Polymerase Chain Reaction (PCR)

Luis Guillermo Ramírez Mérida, Alba Morón de Salim, Ana Yudith Alfieri Graterol, Orlando Gamboa 254

Physico-chemical and microbiological evaluation of UHT milk commercialized in three Mercosul countries (Brazil, Argentina and Paraguay).

Domareski Jackson Luiz, Bandiera Nataly Simões, Sato Rafael Tamostu, Aragon-Alegro Lina Casale, Santana Elsa Helena Walter de 261

Food Science

Tuna (*Thunnus thynnus*) glazed with hydrocolloids as alternative of edible coatings and stored at -10°C

Sarahi Mena, Leonardo Rodríguez y Marinela Barrero 270

Effect of processing and storage time on the vitamin C and lycopene contents of nectar of pink guava (*Psidium guajava* L.)

Luis E. Ordóñez-Santos and Andrea Vázquez-Riascos 280

Food Technology

Mixed drink consisting of guava (*Psidium guajava*. L) and forrageira palm (*Opuntia ficus-indica*): development and acceptability

Rita Débora de Sá Rodrigues Batista, Robson Alves da Silva, Tatiane Menezes Brandão, Teresinha Rodrigues Veloso, Josyanne Araújo Neves, Débora Nascimento e Santos 285

Amaranth bars enriched with fructans: acceptability and nutritional value

Vanessa Dias Capriles, José Alfredo Gomes Arêas 291

LatinFood. Food Composition

Folate content and retention in selected raw and processed foods

Bassett, M.N. and Sammán, N.C. 298

Fatty acid profile of high consumption foods by school population of the region Metropolitan of Chile, including trans fatty acid content

Zamorano M., Llanquín P., Montealegre R. 306

IN MEMORIAM 312

INFORMATION FOR AUTHORS 314

Alimentos autóctonos de las comunidades indígenas y afrodescendientes de Colombia

Ximena Rivas Abadía, Sonia Carolina Pazos, Silvana Katerin Castillo Castillo, Helena Pachón

Instituto Colombiano de Bienestar Familiar (ICBF), Bogotá DC, Colombia.
Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Palmira-Valle del Cauca, Colombia

RESUMEN. El objetivo de presente estudio fue conocer qué consumen las comunidades indígenas y poblaciones afrodescendientes en Colombia, ya que es importante para los programas sociales como los del Instituto Colombiano de Bienestar Familiar (ICBF). En este trabajo se obtuvo información de alimentos autóctonos en comunidades indígenas y afrodescendientes de diez departamentos colombianos (Cauca, Nariño, Amazonas, Chocó, Guainía, Vichada, Magdalena, Guajira, Cesar, Vaupés). Se aplicó una ficha técnica donde se indagaba ubicación e información personal del encuestado, nombre y tipo del alimento, grupo que lo consume, clima en el que se produce, épocas de cosecha, forma de consumo, preparaciones, propiedades, producción actual, uso y ubicación. Se entrevistó grupos ó personas clave como madres comunitarias del ICBF, autoridades indígenas, docentes, médicos tradicionales, entre otros, bajo la supervisión de profesionales de la unidad móvil del ICBF en cada departamento y se obtuvo información bibliográfica (n=123 documentos). De los departamentos seleccionados se visitaron 13 ciudades y se encuestaron 139 personas donde se reportaron 92 nuevos alimentos entre carnes, vegetales y otros, referenciando como nuevo alimento aquel que no se encontrara en la Tabla de Composición de Alimentos Colombianos. De los 92 alimentos, se obtuvo el nombre científico para 62. De estos, 2 se catalogaron como otro, 18 como cárnicos, 3 como insectos y 39 como plantas repartidos en frutos (n=29), hojas (n=4), semilla (n=3) y raíces (n=3). Las comunidades afro-descendientes e indígenas colombianos reportan consumir decenas de alimentos que hoy en día no se encuentran en la Tabla de Composición de Alimentos Colombianos.

Palabras clave: Alimentos autóctonos, comunidades indígenas, poblaciones afrodescendientes, Colombia, ICBF.

INTRODUCCION

En diferentes partes del mundo se han hecho estudios sobre alimentos nativos de las comunidades minoritarias. Por ejemplo en Canadá, Kuhnlein (1) afirma que los sistemas alimentarios tradicionales de los pueblos indígenas contienen una gran cantidad de información sobre las especies de alimentos únicos que pueden ser utilizados para la nutrición humana. Si bien existe una gran diversidad en los ecosistemas culturales utilizadas por los pueblos indígenas a través de la historia, y gran variedad en las especies vegetales y animales utilizadas como alimento, la tendencia actual es sustituir el

SUMMARY. Foods native to indigenous and afro-descendants in Colombia. For social programs in Colombia, like those administered by the Instituto Colombiano de Bienestar Familiar (ICBF), it's important to know what native foods minority groups consume. This research obtained information on native foods consumed by indigenous and afro-descendants living in 10 Colombian departments: Cauca, Nariño, Amazonas, Chocó, Guainía, Vichada, Magdalena, Guajira, Cesar and Vaupés. A questionnaire was applied to key informants (individually or in groups), addressing the following topics: personal information on the informant, name and type of food, if consumed by indigenous and/or afro-Colombians, climate where produced, time of year when harvested, if consumed raw or cooked, preparations, properties ascribed to the food, and current production, use and availability. Key informants included participants in ICBF's programs, indigenous authorities, teachers, traditional healers, and others, under the supervision of professionals from ICBF's mobile unit in each department. Bibliography (n=123 documents) was compiled and reviewed. In the departments selected, 13 municipalities were visited, 139 individuals were interviewed and at least 92 new foods (i.e., not currently included in the Colombian Food Composition Table) were identified. Among the 92, the scientific name was obtained for 62 foods. Of these, 2 were classified as other, 18 as meats, 3 as insects, and 39 as plants. Among the plants, informants mentioned fruit (n=29), leaves (n=4), seed (n=3) and roots (n=3). Indigenous and afro-descendent communities in Colombia report consuming dozens of foods that are not currently in the Colombian Food Composition Table.

Keys words: Indigenous food, indigenous community, afro-descendant population, Colombia, ICBF.

uso de muchos de estos alimentos con productos industrializados derivados que circulan a través de redes de mercado. Sin embargo, la atención prestada hasta la fecha para la composición química de los alimentos tradicionales de los pueblos indígenas es fragmentada.

A través del tiempo en Colombia se han manifestado cambios en el comportamiento, prácticas y hábitos alimentarios, como la disminución en el consumo de alimentos autóctonos de cada región, al ser sustituidos estos cultivos por otros de mayor comercialización (2). Por otra parte, las comunidades indígenas han reemplazado algunos de sus alimentos autóctonos por otros que para ellos, son de mayor

prestigio social y que pueden resultar de menor aporte nutricional, como el caso de las gaseosas, dulces y otros. En el consumo de alimentos autóctonos influyen especialmente la disponibilidad, el poder adquisitivo y la decisión de consumir, además de la selección y la preparación de alimentos. Por ello es importante y relevante identificar y documentar cuáles son los alimentos autóctonos de consumo en la población indígena colombiana y afrocolombiana.

Mediante el AUTO 004 de 2009 (3) se reconoce la importancia de la protección de los derechos fundamentales de las personas y los pueblos indígenas y afrodescendientes y debido a la enorme gravedad de su situación adopta determinaciones, imponiendo al gobierno nacional el deber de aplicar una política que incorpore el enfoque diferencial de diversidad étnica y cultural a que tienen derecho los indígenas y afrodescendientes desplazados, confinados o en peligro de desplazamiento. Para el Instituto Colombiano de Bienestar Familiar (ICBF) existe la necesidad de contribuir a garantizar la seguridad alimentaria y nutricional, especialmente en las poblaciones que se perciban con necesidades básicas insatisfechas como la población indígena y afrodescendiente y que su atención diferencial se enmarca dentro de los principios fundamentales del actuar del ICBF (Silvana Katerin Castillo Castillo, ICBF, comunicación personal). Existe seguridad alimentaria y nutricional cuando todas las personas tienen en todo momento acceso físico y económico a suficientes alimentos inocuos y nutritivos para satisfacer sus necesidades alimenticias y sus preferencias en cuanto a los alimentos a fin de llevar una vida activa y sana (4).

En Colombia se vienen desarrollando proyectos a nivel nacional en pro de la seguridad alimentaria y nutricional de las comunidades minoritarias, en los que se manifiestan inconformidades con el enfoque de algunos programas institucionales de orden social. En el departamento del Cesar, Maestre (5) resaltó que el “pueblo indígena considera que la orientación de la educación es un factor importante para la afirmación de la identidad cultural y la formación de un pueblo autónomo...y que es determinante los hábitos o costumbres alimentarias, buscando el equilibrio entre los hábitos y las costumbres de la cultura; esto significa tener una buena nutrición ya que el objetivo de una política nutricional bien planificada es modificar (no cambiar) los hábitos alimenticios de la población y encaminarlos...de manera que repercuta en una mejoría de la salud en la población”. Martínez (6) en Vichada propuso “brindar una atención diferenciada a la primera infancia indígena para el fortalecimiento de los aspectos nutricionales, de cuidado y acompañamiento positivo a sus procesos primarios de socialización en un ámbito cultural específico.”

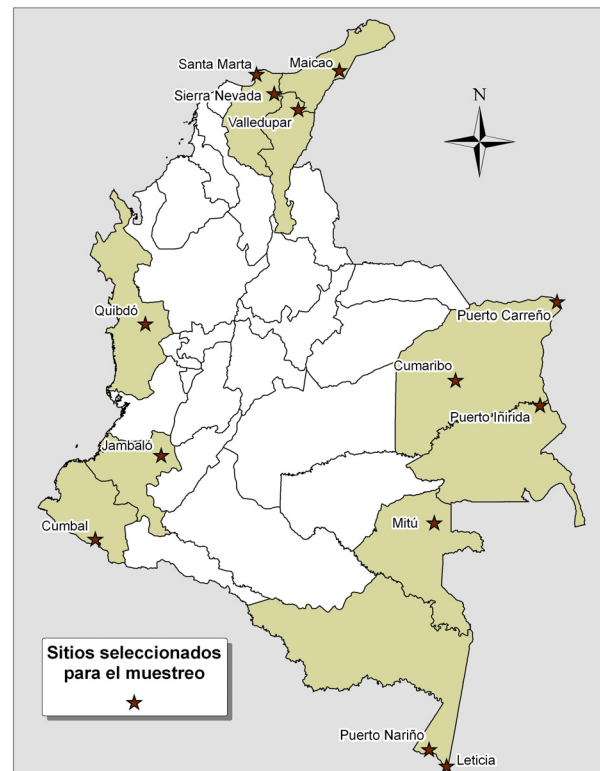
Por estas razones el desarrollo de este proyecto, responde a las necesidades de investigar sobre los alimentos nativos de

consumo en el país por dos grupos minoritarios poblacionales, los indígenas y afrodescendientes, con el fin de realizar un posterior estudio de caracterización de los mismos y analizar la viabilidad de su inclusión en las minutas de los programas institucionales del ICBF.

MATERIALES Y METODOS

De 32 departamentos de Colombia (Figura 1), se seleccionaron 10, algunos con sus respectivas capitales, que según el Departamento Administrativo Nacional de Estadística (7) tienen la mayor concentración de comunidades indígenas y poblaciones afrodescendientes. A su vez, se seleccionaron los municipios de Jambaló en el Cauca, Cumbal en Nariño, Leticia y Puerto Nariño en Amazonas, Mitú y San José en Vaupés, Puerto Inírida y Barrancominas en Guainía, Puerto Carreño y San José de Ocune en Vichada, Valledupar en Cesar, Maicao en Guajira, Sierra Nevada en Magdalena y Quibdó en Chocó, que son los que tienen mayor cantidad de habitantes indígenas y afrodescendientes (8), descartando aquellos que actualmente presentan problemas de orden público o difícil acceso.

FIGURA 1
Ciudades y municipios visitados en Colombia para la recolección de datos



Fuente: Emmanuel Zapata Geógrafo CIAT

Entre diciembre 2009 y marzo 2010, se recolectó información, mediante la aplicación de una ficha técnica a informantes clave los cuales podían ser líderes de los cabildos indígenas, madres comunitarias, ecónomas de escuelas, comerciantes de plazas de mercado y/o restaurantes y personal de salud en hospitales de cada región. Con la ficha técnica se determinaba ubicación geográfica, nombre, edad, tiempo de residencia en la zona, ocupación, resguardo, etnia y número telefónico del informante clave; referente al alimento se tomaban datos acerca del nombre del alimento exactamente como lo refiriera el encuestado, si el consumo es de indígenas o afrodescendientes, clima en el que se produce, tipo (especificando cárnico, planta u otro), épocas de cosecha, forma de consumo, preparaciones, propiedades, producción actual, uso y ubicación. En la mayoría de los casos, se aplicó una ficha técnica por persona; sin embargo en Guainía, Guajira, Vichada y Vaupés, se aplicó una ficha técnica a un grupo de personas que habían sido organizadas para dicho fin.

Cuando fue posible se hizo registro fotográfico de los alimentos. Se revisó bibliografía en bibliotecas, universidades e Internet. Además, se tuvo acceso a documentos del ICBF y de otras entidades teniendo como foco de información artículos, recetarios, tesis, cartillas didácticas, pendones y otros escritos sobre alimentos autóctonos de las comunidades indígenas y afrodescendientes en cada región. Así mismo se acudió donde un biólogo de la Universidad Nacional de Colombia para obtener orientación sobre la nomenclatura científica de los alimentos encontrados. Se definió como posible nuevo alimento aquel que no esté reportado en la Tabla de Composición de Alimentos Colombianos (TCAC) (9).

RESULTADOS

En diez departamentos del país se llenaron 139 fichas técnicas con personas o grupos identificados como informantes clave pertenecientes a 20 etnias diferentes: Amoruba, Arhuaco, Bara, Cocama, Cubeo, Curripaco, Desano, Kankuamo, Los Pastos, Nasa, Piapoco, Puinave, Sáliva, Sikuani, Ticuna, Tucano, Wayuú, Wiwa, Yukpa y Yurutí y población afrodescendiente distribuidas en todo el país. Los informantes identificaron posibles nuevos alimentos (n=158), de los cuales se eliminaron 12 por estar reportados en la TCAC con un nombre diferente, obteniendo un total de 146 de los cuales sólo 92 corresponden al valor real, debido a que en algunos departamentos hicieron referencia a un mismo alimento con diferente nombre. De los 92 alimentos, se logró obtener el nombre científico para 62 (Tabla 1). De estos 62 alimentos, 2 se catalogaron como otro, 18 como cárnicos 3 como insectos y 39 como plantas repartidos en frutos (n=29), hojas (n=4), semilla (n=3) y raíces (n=3). De los 30 alimentos sin nombre científico, se indica el tipo de alimento, el lugar de procedencia y se mencionan características como forma de preparación y

usos del alimento, es decir, si se utiliza como sustento diario o si se usa para satisfacer el paladar (Tabla 2).

DISCUSION

En esta investigación se identificaron casi 100 alimentos que no se encuentran actualmente en la Tabla de Composición de Alimentos Colombianos. La discusión se centra en los 62 alimentos cuyo nombre científico se pudo verificar.

Alimentos catalogados como “otro”

Entre estos se encuentran los hongos (*Auricularia auricula*) (10) de diferentes variedades que consumen los indígenas de la etnia Cubeo en la comunidad de Macaquiño en el departamento de Vaupés, donde a través del conocimiento ancestral reconocen los que son útiles para alimentación y los preparan con simple cocción. Este es un alimento de sustento diario el cual usan como proteína en reemplazo de la carne. Otros reportan que “los hongos tienen un gran contenido de agua, que está entre el 80% y el 90% y poseen altas cantidades de proteína, grasa y vitaminas como riboflavina” (11), lo cual podría justificar su importancia en la alimentación indígena. En el departamento de Vichada en Cumaribo en la comunidad Puerto Infante los indígenas Sikuani del resguardo Bajo Río Vichada consumen otro alimento de la categoría otro, referido por ellos como nido de avispa (*Polybia* sp.) (12) el cual se asa levemente para su consumo y también es usado para hacer rituales.

Animales silvestres

Los informantes reportan la importancia de la pesca y caza de animales silvestres. Se reportaron peces como guacuco (*Plecostomus tenuicauda*) (13), quícharo o guabina (*Hoplias malabaricus*) (14), bocón (*Bricon falcatus*) (15), y yamú (*Brycon siebienthalae*) (16), los cuales fueron mencionados en los departamentos de Chocó y Guainía. Páez (17) afirmó que en Chocó por las épocas de gran cosecha, que comenzaba en el mes de marzo, los mercados se invadían de estos productos de la pesca. En Guainía se consume el bocón (*B. falcatus*), la guabina (*H. mlabaricus*) y el yamú (*B. siebienthalae*), de los cuales hay disponibilidad todo el año, por ello se catalogan como alimento de sustento diario. Reportan que los preparan asados, cocinados en sopa y moquiados, es decir, asados en camaretas (18).

En cuanto a animales silvestres se reportó el mico tití (*Saimiri sciureus*) (15), venado (*Odocoileus virginianus*) (15), gato de monte (*Felis yaguaroundi*) (19), tatabro (*Tayassu tajacu*) (20) denominado como un cerdo silvestre de coloración negruzca, con un collar blanquecino (21), en Chocó, conocido como saíno en Guajira y Guainía y la danta ó tapir (*Tapirus terrestres*) (15). Este último es un animal robusto, de cuerpo cilíndrico, cuello grueso y extremidades relativamente cortas;

TABLA 1
Alimentos únicos encontrados, con su nombre local y científico (n=62)

Tipo de alimento	Nombre local*	Nombre científico	Familia
Carne	Bocón	<i>Bricon falcatus</i>	Characidae
Carne	Boruga-Guagua-Guarda-Guartinajo-Lapa	<i>Agouti paca</i>	
Carne	Cuy	<i>Cavia porcellus</i>	
Carne	Danta	<i>Tapirus terrestris</i>	
Carne	Gato de Monte	<i>Felis yaguaroundi</i>	
Carne	Guabina - Quicharo	<i>Hoplias malabaricus</i>	
Carne	Guacuco	<i>Plecostomus tenuicauda</i>	
Carne	Mico tití	<i>Saimiri sciureus</i>	
Carne	Ñeque - Guara - Picure - Guatín	<i>Dasyprocta fuliginosa</i>	
Carne	Ocarro	<i>Priodontes maximus</i>	
Carne	Paujil	<i>Mitu tomentosa</i>	
Carne	Perdiz	<i>Tinamus sp.</i>	
Carne	Puerco espín	<i>Coedou prehensilis</i>	
Carne	Rana	1. <i>Dendrobates sp.</i> 2. <i>Eleutherodactylus sp.</i> 3. <i>Bufo cerathphrys</i> 4. <i>Bufo sp.**</i>	
Carne	Cajuche	<i>Tayassu pecari</i>	
Carne	Saino - Tatabro	<i>Tayassu tajacu</i>	
Carne	Venado	<i>Odocoileus virginianus</i>	
Carne	Yamú	<i>Brycon siebenthalae</i>	Characidae
Fruto	Almirajó	<i>Patinoa almirajó</i> Cuatre.	Bombacaceae
Insecto	Hormiga culona - Bachaco	<i>Atta sp. Colona</i>	
Insecto	Manibara - Hormiga arriera	<i>Atta cephalotes</i>	
Insecto	Mojojoy	Larva de <i>Rynchophorus palmarum</i>	
Fruto	Asaí - Wasaí - Manaca	<i>Euterpe sp.</i>	Arecaceae
Fruto	Avina	<i>Eperea purpurea</i>	Caesalpinaceae
Fruto	Bacaba - Ibacaba	<i>Oenocarpus bacaba</i>	Arecaceae
Fruto	Bacao - Macambo	<i>Theobroma bicolor</i>	Esterculiaceae
Fruto	Changuango	<i>Dracontium polyphyllum</i> L.	
Fruto	Chauchilla - Archorcha	<i>Lotus corniculatus</i> L.	
Fruto	Choibá - Sarrapia	<i>Dypteryx panamensis</i> (Pitt.) Record.	Fabáceae
Fruto	Cucurito	<i>Maximiliana sp</i>	
Fruto	Cumare	<i>Astrocaryum chambira</i>	Palmae
Fruto	Guáimaro	<i>Brosimum utile</i> (H.B.K.) Pittier.	Moráceae
Fruto	Guamacho	<i>Pereskia colombiana</i>	Cactaceae
Fruto	Guásimo	<i>Guazuma ulmifolia</i>	Sterculiaceae
Fruto	Huito	<i>Genipa americana</i> L.	Rubiaceae
Fruto	Ibapichuna	<i>Protium polybotrium</i>	Burseraceae
Fruto	Inayá	<i>Attalea Regia</i>	Palmae
Fruto	Juansoco - Pendare	<i>Couma macrocarpa</i>	Apocynaceae
Fruto	Kayuus	<i>Pilocereus russelianus</i>	
Fruto	Lulo pequeño	<i>Solanum stramonifolium</i>	
Fruto	Moriche - Mirití - Aguaje - Canangucha	<i>Mauritia flexuosa</i>	Arecaceae
Fruto	Nawu	<i>Pouteria arguacoensium</i> (Karst.) Baehni.	Sapotaceae
Fruto	Pacó	<i>Gustavia superba</i> (Kunth.) O. Berg.	Lecitidaceae
Fruto	Seje - Milpesos - Patabá	<i>Oenocarpus bataua</i> Mart.	Palmae
Fruto	Takee	<i>Caryodendron orinocense</i> Karst.	Euphorbiaceae
Fruto	Toco	<i>Crataevia tapia</i>	
Fruto	Trupillo	<i>Prosopis coliflora</i> (Sw.) DC.	
Fruto	Ucuquí	<i>Pouteria ucuqui</i>	Sapotaceae
Fruto	Umarí - Yuri	<i>Poraqueiba Sericea</i>	Icacinaceae
Fruto	Waituto	<i>Anona sp.</i>	Annonaceae
Hoja	Carayurú	<i>Arrabidaea chica</i>	
Hoja	Carurú	<i>Phytolacca rivinoides</i>	Phytolacaceae
Hoja	Pacunga	<i>Galinsoga caracasana</i>	Compositae
Hoja	Neldo	<i>Foeniculum vulgare</i> Mill.	
Otro	Hongo	<i>Auricularia auricula</i>	
Otro	Nido de avispa	Nido de <i>Polybia sp.</i>	
Raíz	Achín	<i>Colocasia esculenta</i> (L.) Schott.	
Raíz	Barbasco	<i>Clibadium surinamense</i>	Asteraceae
Raíz	Tabena - Ñame	<i>Dioscorea bulbifera</i> L.	
Semilla	Frijol cacha	<i>Phaseolus polyanthus</i>	
Semilla	Frijol guajiro o frijol cabecita negra	<i>Vigna aff unguiculada</i>	
Semilla	Siringa	<i>Hevea guianensis</i>	Euphorbiaceae

* Varios nombres separados por guión (-) significa que en diferentes departamentos tiene un nombre diferente el mismo alimento.

** Mención de cuatro especies de rana que reportan consumir.

TABLA 2

Alimentos únicos encontrados, cuyo nombre científico no se identificó (n=30) donde se especifica tipo de alimento, nombre referido, departamento donde se mencionó, algunas preparaciones y usos

Tipo de alimento	Nombre local	Departamento	Preparación para el consumo	Usos del alimento, sustento diario o para satisfacer el paladar
Carne	Charre	Choco	Sopas-Asado-Frito-Cocinado	Sustento
Carne	Lobo	Guajira	Sopas-Desmechada-Semifrito-Asada-Guisada-Molida	Sustento
Carne	Mapurite	Guajira	Frito	Sustento
Carne	Paloma	Guajira	Sopas-Desmechada-Semifrito-Asada-Guisada-Molida	Sustento
Insecto	Tapurú	Vaupés	Sopas-Tostado	Sustento
Fruto	Besa	Magdalena	Directo sin cocción	Sustento
Fruto	Gaine	Magdalena	Directo sin cocción	Paladar
Fruto	Isidra	Magdalena	Sopas-Cocinado	Sustento
Fruto	Jayá Jayá	Guajira	Bebidas-Directo sin cocción	Sustento
Fruto	Kaliyu	Guajira	Asado inmaduro-Directo sin cocción	Sustento
Fruto	Manzana silvestre	Magdalena	Bebidas-Directo sin cocción	Sustento
Fruto	Mapué	Guainía	Directo sin cocción	Sustento
Fruto	Mewu	Magdalena	Directo sin cocción	Sustento
Fruto	Palo de niño	Vichada	Bebidas-Directo sin cocción	Paladar
Fruto	Picá	Vaupés	Bebidas	Sustento
Fruto	Platanillo	Vichada	Asado	Paladar
Fruto	Rabiacana	Cesar	Bebidas-Directo sin cocción	Sustento
Fruto	Reinas	Nariño	Directo sin cocción	Paladar
Fruto	Sáliva	Vichada	Directo sin cocción	Sustento
Fruto	Samarrué	Vichada	Directo sin cocción	Paladar
Fruto	Yapí	Vaupés	Bebidas	Sustento
Hoja	Patú	Vaupés	Condimento-Tostado-Polvo-Pilado	Sustento
Raíz	Bayo	Magdalena	Sopas-Cocinado	Sustento
Raíz	Chonky	Vichada	Sopas-Guisado	Paladar
Raíz	Najía	Vaupés	Bebidas fermentadas y no fermentadas	Sustento
Raíz	Puyú	Vaupés	Bebidas fermentadas y no fermentadas-Directo	Sustento
Raíz	Yai	Vaupés	Bebidas fermentadas y no fermentadas	Sustento
Semilla	Maíz rojo	Guajira	Bebidas-Sopas-Bollos-Harinas	Sustento
Semilla	Pirijuyá	Guajira	Bebidas-Sopas	Sustento
Semilla	Yapurá	Vaupés	Condimento	Sustento

se alimenta principalmente de hojas, ramas, hierbas, frutas, y ocasionalmente flores (22). La cacería indiscriminada ha llevado a esta especie a estar en la categoría de peligro crítico de extinción. Entre otros animales silvestres está uno de uso común, en Vaupés, Guainía y Vichada conocido como lapa (*Agouti paca*) (15) donde la calidad de su carne la ubica como la especie más apreciada por las comunidades locales (23). En las comunidades indígenas del departamento del Amazonas es denominado boruga; en el Cesar lo llaman guarda y en la Guajira es conocido como guartinajo. Abadía (24) aseguró que ésta hace parte de “una gran variedad de carnes, algunas de ellas bastante exóticas para otras regiones del país” y en el Chocó se conoce con el nombre de guagua que según Páez

(17) “está ubicada entre las especies de valor económico por las carnes nutritivas que ofrecen...que podrían ser domesticadas y cuidadas para estimular su proliferación doméstica y tener así un permanente recurso en la provisión de carnes”. La Asociación Instituto Lingüístico de Verano (25) reportó que personas de las etnias Judpa, Guahibos (Sikuani), Sirianos y Tucanos se alimentan con carne de este animal. Además, según reportaron informantes clave, consumen aves silvestres como, la perdiz (*Tinamus sp.*) (15) y el paujil (*Mitu tomentosa*) (15).

Otros animales silvestres que se reportaron fué el cajucho (*Tayassu pecari*) (15) y el ñeque (*Dasyprocta fuliginosa*) (15) llamado así en la Guajira y Magdalena, picure en Vichada,

guatín en el Chocó o guara en el Amazonas, que es un animal de caza por parte de los indígenas Arhuaco de la Sierra Nevada de Santa Marta, según Tobar y colegas (26). y . Los informantes reportaron que el consumo de todos los animales silvestres antes mencionados es de sustento diario una vez sean hallados durante las jornadas de caza. En algunas comunidades de los departamentos de Amazonas y Guainía afirman que se facilita el procedimiento de caza durante las épocas de verano debido a que los animales se ven obligados a desplazarse hasta las orillas del río a beber agua.

En los indígenas de los departamentos de Cauca y Nariño no se reportó este tipo de comida. En estas regiones se crían cuyes (*Cavia porcellus*) (27), mas no los cazan (25).

Frutos de plantas

De las plantas encontradas se refirieron a 29 frutos, algunos de palmas silvestres. Por ejemplo se reportó el asaí ó wasaí (*Euterpe sp.*) (28) que es una palma silvestre de Amazonas y Vaupés respectivamente. Martín y Martínez (21) indicaron que “los alimentos vegetales silvestres son parte integral de los procedimientos de subsistencia de los indígenas en la selva tropical de América del Sur y que la palma más universalmente distribuida en las cuencas del Orinoco y el Amazonas con virtudes afrodisiacas es el moriche” que se encuentra en los morichales en Vichada. El morichal es una comunidad donde el elemento florístico predominante es el moriche (29) (*Mauritia flexuosa*) (30), que en Amazonas es conocido como aguaje o canangucha y en Vaupés como mirití. Otro fruto de palma reportado fue milpesos (*Oenocarpus bataua* Mart.) (28), conocido así en Amazonas y Chocó mientras que en Vichada, Guainía y Vaupés se conoce como seje o patabá. Esta es una palma grasosa, comestible como fruta o para elaborar jugo de chicha (29) y leche de mil pesos (32). Por ello Rivera (32) recomendó para la “producción de aceites de alta calidad o para la producción de palmito... cultivar las palmas de milpesos (*O. bataua*), chontaduro (*Bactris gasipaes* Kunth) (28) y asaí (*Euterpe sp.*) y los árboles de umarí (*Poraqueiba sericea*) (30) y tacay (*Caryodendron orinocense* Karts.) (28)”.

Con todos estos frutos de palma se preparan bebidas refrescantes y fermentadas. El procedimiento inicial en su preparación no incluye cocción, pero sí se debe agregar agua caliente para facilitar el desprendimiento de la cáscara. Además se encontraron frutas cuyo consumo es directo u otras para las cuales se requieren tratamientos térmicos, entre ellos el macambo o bacao (*Theobroma bicolor*) (33) en Amazonas y Chocó, respectivamente, el cual informantes describieron como un cacao silvestre del cual se consume su pulpa y en algunos casos se usa la semilla. Según Hoyos (34), los Huitotos utilizan la pepa de macambo para obtener aceite, que proporciona exquisito sabor a las comidas. También puede ser utilizada la pulpa del fruto de macambo en la fabricación de néctares, mermeladas, salsa y yogurt, además de su uso como verdura

para guisos cuando el fruto es inmaduro (23). Un fruto drupáceo (fruto carnoso que consta de una sola semilla) reportado fue el umarí (*P. sericea*) como es conocido en Amazonas y Vaupés o yurí en Guainía. Los indígenas de las comunidades afirman que tiene un sabor agradable y un aroma característico, se consume directamente en estado natural acompañado de fariña (harina de yuca), también se dispone en casabe y quiñapira (caldo de ají con la sobra de pescado donde se remoja los pedazos de casabe), que son preparaciones típicas de la Amazonía.

En Chocó se encontró el almirajó (*Patinoa almirajó* Cuatre.) (28) el cual se establece como alimento de pancoger cuyo consumo es general en indígenas y afrodescendientes (35). Éste se distingue especialmente por su tamaño grande y su pulpa está formada por una materia polvosa, más aglutinada por una decantada melaza agridulce que permite la degustación con cuchara, lo que se hace tradicionalmente (36). Además se reportó el consumo de choibá o sarrapia (*Dypteryx panamensis* (Pitt.) Record.) (28) en Chocó y Vichada, respectivamente, el cual es un fruto silvestre que para su consumo es previamente remojado para luego desprender la cáscara. El pacó (*Gustavia superba* (Kunth.) O. Berg.) (37), otro fruto de consumo en poblaciones afrodescendientes se puede consumir crudo como fruta o cocido en sopas; los informantes ancianos afirmaron que “ese es un fruto nativo”. Otro fruto encontrado fue el juansoco o pendare (*Couma dulcis* Spruce.) (30) conocido así en Chocó y Vaupés, respectivamente. Según Rivera (32) el juansoco (*C. dulcis*) produce un látex que sirve como pegante para calafatear botes o para fabricar chicle y es empleado para combatir la diarrea.

En Vichada reportaron consumir ocasionalmente el takee o tacay (*C. orinocense*) cocinado, aunque este fruto según Patiño (28) se puede comer crudo, parece que, en la enorme área de dispersión de la especie, algunas formas microcarpas pueden ser tóxicas; es más prudente, por tanto, tostarlas o sancocharlas.

En la Guajira reportaron consumir fruto del weimaro o guáimaro (*Brosimum utile* (H.B.K.) Pittier.) (28) el cual “es un árbol productor de frutos y madera” (29). También se reportó el guázimo (*Guazuma ulmifolia*) (38), el toco (*Crataeva tapia*) (38) y el trupillo (*Prosopis coliflora* (Sw.) DC.) (39). Los informantes reportaron que todos tienen propiedades medicinales. Con el guázimo (*G. ulmifolia*) se lava el cabello con la cocción de la corteza para evitar su caída y se utiliza en baños para aliviar la fiebre; el zumo o infusión de la planta de toco (*C. tapia*) se toma contra el reumatismo, llagas infectadas y resfriados; el consumo del trupillo (*P. coliflora*) crudo o del jugo obtenido de su cocción con panela sirve como reconstituyente y además se usa para mujeres en posparto (38). En la Sierra Nevada de Santa Marta consumen un fruto conocido en lengua indígena arhuaco como nawe (*Pouteria arguacoensium* (Karst.) Baehni.) (28) que según Patiño (28) tiene “carne pulposa, amarilla, a veces tirando a rosada,

fundente, azucarada, que recuerda el sabor del mangostán.”

En las comunidades indígenas se encontró que el consumo de frutas es limitado ya que depende de las épocas de cosecha. Los informantes explican que son muy pocas las frutas cuya cosecha es constante durante todo el año, por ende la ingesta de éstas no se convierte en consumo para sustento diario de las familias. Ariza et al. (40) expresó que las diversas épocas del año marcan la aparición de ciertos frutos, en especial los frutos de palmas, preparados y utilizados de varias maneras, entre ellas, el cumare (*Astrocaryum chambira*) (15), el moriche (*M. flexuosa*), el cucurito (*Maximiliana sp.*) (28) y variedades de la palma de seje (*O. bataua Mart.*).

Hojas de plantas

Se reportaron cuatro plantas cuya parte utilizada es la hoja: pacunga (*Galinsoga caracasana*) (41), carurú (*Phytolacca rivinoides*) (30), carayurú (*Arrabidaea chica*) (Fernando Jaramillo 2010) y neldo (*Foeniculum vulgare* Mill.) (39) de las cuales sólo las tres últimas se usan como condimento en polvo, tostado o pilado (macerado). Todas se cocinan y se utilizan en la preparación de sopas. El carurú tiene como característica especial según los nativos que brota espontáneamente sólo después de quemar la chagra.

Raíces de plantas

En cuanto a raíces de la planta se reportaron 3 alimentos, todos consumidos tradicionalmente por personas de las comunidades indígenas y poblaciones afrodescendientes. Se mencionó el achín (*Colocasia esculenta*) (42) en Chocó y el barbasco (*Clibadium surinamense*) (30) en Vaupés. En cuanto al último, Arango y colega (43) afirmaron que “las regiones selváticas tienen una economía diferente, los indígenas han desarrollado un sistema autónomo alrededor de siete especies vegetales entre ellos el barbasco”. Otro tubérculo mencionado fue la tabena (*Dioscorea bulbifera* L.) (39) en Vichada, que es una variedad de ñame (*Dioscorea spp.*) (44). Los alimentos nombrados se consumen preparados en sopas.

Semillas de plantas

También se reportó semillas como el frijol cacha (*Phaseolus polyanthus*) (45), que según la Asociación de Cabildos Indígenas del Norte del Cauca (45) es un alimento tradicional disponible en la zona norte del Cauca, el cual es necesario cocinarlo bien para eliminar algunas toxinas que entran en su composición. Pero los nativos afirman que éste no requiere mucho tiempo de cocción a diferencia de otras variedades comerciales. En la Guajira reportaron una variedad de frijol al que llaman cabecita negra o frijol guajiro (*Vigna aff. unguiculata*) (46), que “es una excelente fuente de carbohidratos y proteína y se puede consumir el fruto fresco o seco, ya sea guisado o en arroz con frijol, éste último es considerado un plato típico de la Guajira” (46).

Insectos y batracios

En Amazonas, Vaupés y Guainía reportan que insectos y batracios (grupo al que pertenecen las ranas y sapos) hacen parte de la dieta de las comunidades indígenas. Animales como hormigas (*Atta sp. Colona*) (47), gusanos entre ellos el mojojoy (larva de *Rynchophorus palmarum*) (10) y cuatro especies de ranas (1. *Dendrobates sp.* 2. *Eleutherodactylus sp.* 3. *Bufo cerathphrys* 4. *Bufo sp.*) (15) son utilizados como una exquisita fuente de alimento, en consumo directo o cocinado en agua. El mojojoy (larva de *R. palmarum*) (es un gusano que se reproduce en los troncos de las palmas caídas en la selva; se consume crudo o se fríe en su mismo aceite ó se asa directamente a la brasa. Se reporta la cocción en agua de las ranas y el tostado en el caso de las hormigas manibara o culona (*Atta sp. Colona*), las cuales según la Asociación Instituto Lingüístico de Verano (25) en temporada son un complemento en la dieta de los indígenas. Hoyos (34) aseguró que el mojojoy (larva de *R. palmarum*) es una fuente de proteínas y de grasas no saturadas. De hecho, Ariza y colegas (40) afirmaron que los bachacos u hormigas culonas (*Atta sp. Colona*), constituyen un alimento ocasional muy apetecido a comienzo del invierno en los indígenas Sikuaní, Piaroa, Piapoco, Curripaco y Puinave.

Actividad agrícola

Una de las principales actividades reportadas por los indígenas y afrodescendientes fue la agricultura de subsistencia basada en la recolección de frutos silvestres y en actividades agrícolas de productos de la huerta, chagra o conuco, siendo éste el sitio donde se tienen los cultivos. Rivera (32) afirmó que “los grupos indígenas han logrado preservar buena parte del conocimiento ancestral sobre el manejo de la selva y el aprovechamiento de las especies de flora y fauna que el medio les brinda”; Tobar y Chinchilla (48) indican que para mejorar la disponibilidad de alimentos a nivel familiar, se recomienda incentivar los cultivos ya tradicionales en sus chagras e incorporar nuevos cultivos según las condiciones climáticas y ecológicas de cada región, que les permitan tener variedades de alimentos para el autoconsumo.

Limitaciones y fortalezas de la investigación

Algunas limitaciones en el desarrollo del trabajo fue el no poder tener acceso a algunas comunidades y poblaciones por lejanía, problemas de orden público o costos de transporte, además algunas personas manifestaron inconformidad con la aplicación de la ficha técnica debido a que cuando se trabajó en entrevistas comunitarias las listas se alargaban y se tomaba mucho tiempo el diligenciamiento de la misma debida a las grandes cantidades de información que se manejaba. Se logró conseguir menos información sobre alimentos autóctonos de comunidades afrodescendientes que etnias indígenas, principalmente debido a que se visitaron más municipios donde

el segundo grupo predominaba. Se encontró como ventajas que las herramientas de trabajo fueron eficientes y se lograron buenos registros fotográficos, se pudo tener acceso a algunas comunidades rurales cercanas a las capitales cuando se tenían los medios físicos y monetarios y se recibió apoyo técnico de parte del ICBF razón por la cual se pudo llevar la investigación a cabalidad. Finalmente, esta investigación aportó nuevos alimentos autóctonos para su posterior análisis nutricional e inclusión en la Tabla de Composición de Alimentos Colombianos (9) así contribuyendo a programas sociales futuros en el país que atienden indígenas y afrodescendientes.

AGRADECIMIENTOS

Al Instituto Colombiano de Bienestar Familiar (ICBF) por brindarnos su apoyo técnico gestionando así el acompañamiento permanente en el desarrollo de este trabajo, a todas las personas de las comunidades visitadas entre voceros y gente del común, a las madres comunitarias y encargados de programas institucionales del ICBF, a personas de otras entidades (CIAT, SINCHI, ReSA, OMACHA, ORPIBO, Universidad de San Buenaventura Cali, SENSE), al biólogo-etnobotánico Luis Eduardo Forero Pinto, Director del Herbario José Cuatrecasas Arumi (VALLE) de la Universidad Nacional de Colombia y a todas las personas que nos brindaron información bibliográfica oportuna.

REFERENCIAS

1. Kuhnlein HV. The joys and pains of sampling and analysis of traditional food of indigenous peoples. *J. Food Compos. Anal.* 2006;13:649-658.
2. Tobar LF, Chinchilla M. Aspectos nutricionales y alimentarias de las comunidades indígenas colombianas. Bogotá (Colombia): Pontificia Universidad Javeriana; 1996.
3. Corte Constitucional de Colombia. Auto N° 004 de 2009. Bogotá (Colombia): Corte Constitucional de Colombia; 2009.
4. Food and Agriculture Organization. Cumbre mundial sobre la alimentación. Roma (Italia): FAO; 1996. [citado 2010 marzo 19]. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/003/W3613S/W3613S00.HTM>.
5. Maestre JD. Adecuación de minutas diseñadas por el Instituto Colombiano de Bienestar Familiar y suministradas a los programas de nutrición de los niños preescolares y escolares del resguardo indígena Kankuamo. Valledupar (Colombia): ICBF centro zonal Valledupar; 2010.
6. Martínez AL. Atención diferenciada a población indígena proyecto de hogar comunitario indígena. Cumaribo (Colombia): ICBF centro local; 2010.
7. Departamento Administrativo Nacional de Estadística (DANE). Censo general. Bogotá (Colombia): DANE; 2005.
8. Departamento Administrativo Nacional de Estadística (DANE). Censo de población y vivienda. Bogotá (Colombia): DANE; 2000.
9. Instituto Colombiano de Bienestar Familiar (ICBF). Tabla de Composición de Alimentos. Bogotá (Colombia): ICBF; 2005. [citado 2009 diciembre 22]. Disponible en: http://alimentoscolombianos.icbf.gov.co/alimentos_colombianos/consulta_alimento.asp.
10. Correal C, Zuluaga G, Madrigal L, Caicedo S, Plotkin M. Ingano Traditional Food and Health: phase 1, 2004-2005. En: Kuhnlein H, Erasmus B, Spigelski D, editores. *Indigenous people's food systems: The many dimensions of culture diversity and environment for nutrition and health*. Roma: FAO/CINE; 2009. p. 83-108.
11. Universidad del Valle. Hongos: riqueza de la naturaleza poco explotada. Cali (Colombia): Agencia universitaria de periodismo científico y cultural; 1997. [citado 2010 marzo 23]. Disponible en: <http://aupec.univalle.edu.co/informes/abril97/boletin34/hongos.html>.
12. Villegas C. Reconocimiento fitosanitario en cinco variedades cultivadas de macadamia (*Macadamia integrifolia* Maiden et Betch) en la zona cafetera colombiana. *Manejo Integrado de Plagas y Agroecología*. 2005;76:69-76.
13. Aspectos hídricos limnológicos y biológicos pesqueros. Cali (Colombia): 2002. [citado 2010 marzo 27]. Disponible en: <http://www.slideshare.net/RATEYE68/presentacion-completa-katios-presentation>.
14. Salinas Y, Córdoba E, Alonso JC, Prieto EF, Bonilla O. Catálogo de la biodiversidad de Colombia: *Hoplias malabaricus* (Bloch, 1794). Amazonas (Colombia): Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas; 2007. [citado 2010 marzo 24]. Disponible en: <http://www.siac.net.co/sib/catalogoespecies/especie.do?idBuscar=557&method=displayAAT>
15. Alcaldía municipal de Carurú, Vaupés. Flora y Fauna. Carurú (Colombia): Alcaldía municipal de Carurú, Vaupés (Colombia); 2010 [citado 2010 marzo 27]. Disponible en: http://caruruvaupes.gov.co/apc-aa-files/34373137326264666431303736393531/FLORA_Y_FAUNA.doc.
16. Salinas Y, Agudelo E. Estudios regionales de la Amazonia Colombiana. Bogotá (Colombia): Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas SINCHI; 2000.
17. Páez C. Recursos naturales frutales del territorio del Chocó. *Ec Colomb*. 1958;18:1-51.
18. Biblioteca Luis Ángel Arango. Geografía humana de Colombia región de la Orinoquía: Piapoco. Colombia: Banco de la República; 2010. [citado 2010 marzo 24]. Disponible en: <http://www.lablaa.org/blaavirtual/geografia/geogra32/piapoco1.htm>.
19. Biblioteca Luis Ángel Arango. Caribe Colombia fen Colombia vertebrados terrestres. Colombia: Banco de la República; 2010. [citado 2010 marzo 27]. Disponible en: <http://www.lablaa.org/blaavirtual/geografia/carcol/verte2.htm>.
20. Palacios Y, Rodríguez A, Jiménez A. Aprovechamiento de los recursos por parte de la comunidad local en la cuenca media del río Atrato, Choco, Colombia. *Revista Institucional Universidad Tecnológica del Chocó*. 2008;27(2):175-85.
21. Martín M, Martínez L. Colombia ¡Que linda eres!. Bogotá (Colombia): Educar Cultural Creativa; 1994.
22. Rodríguez L. Nuestra fauna silvestre y las hormigas arrieras. *Ecoambiente CDA*. 2010;1:19-20.
23. Instituto Colombiano para el Desarrollo de la Ciencia y la

- Tecnología – Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria. Especies promisorias de la Amazonia. Macagual (Colombia): Salvador Rojas González; 2001.
24. Abadía G. ABC del folklore Colombiano. Bogotá (Colombia): Panamericana; 1997.
 25. Asociación Instituto Lingüístico de Verano. Culturas indígenas - Colombia. Bogotá (Colombia): Buena Semilla; 1994.
 26. Tobar LF, Chinchilla M, Cortés L, Mondragón A. Estado alimentario y nutricional de comunidades indígenas y poblaciones afrocolombianas: Gran expedición humana. Bogotá (Colombia): Pontificia Universidad Javeriana; 1997.
 27. Unionagro. Razas de conejos y roedores. Colombia: Unionagro; 2010. [citado 2010 marzo 27]. Disponible en: <http://www.unionagro.com.co/otros/razas.php>.
 28. Patiño VM. Historia y dispersión de los frutales nativos del neotrópico. Cali (Colombia): Centro Internacional de Agricultura Tropical; 2002.
 29. Consejo Regional de Planificación Económica y Social Orinoquía. La Orinoquía colombiana “visión monográfica”. Bogotá (Colombia): Gente Nueva; 1996.
 30. Cárdenas D, Arias J, Vanegas J, Jiménez D, Vargas O, Gómez L. Plantas útiles y promisorias en la comunidad de Wacurabá (Caño Cuduyarí) en el departamento de Vaupés (Amazonia Colombiana). Bogotá (Colombia): Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas Sinchi; 2007.
 31. Maya M, Perea F. Municipio de Condoto. Medellín (Colombia): Gráficas Valladares; 1989.
 32. Rivera D. La Amazonía de Colombia. Santiago de Cali (Colombia): Banco de Occidente; 2008.
 33. Flores S. Cultivos de frutales nativos amazónicos. Lima (Perú): Tratado de Cooperación Amazónica TCA; 1997.
 34. Hoyos L. Alimentos autóctonos y recetas amazónicas. Bogotá (Colombia): Grupo Empresarial Naturaleza y Vida; 2008.
 35. Unidad Móvil ICBF Chocó. Principales cultivos de la zona. Quibdó (Colombia): ICBF regional Chocó; 2010.
 36. Martínez E, López N, Camacho J. Colombia ¡Que linda eres!. Bogotá (Colombia): Educar Cultural Recreativa; 1994.
 37. Medina H, Martínez M, Bonilla J. Caracterización bromatológica de materias primas y subproductos en el municipio de Quibdó, Chocó. Revista Institucional Universidad Tecnológica del Chocó. 2007;26(2):9-12.
 38. Rosado JR. Farmacopea Guajira: Cosmovisión y usos de las plantas medicinales por los Wayuü. Riohacha (Colombia): Universidad de la Guajira; 2009.
 39. Sánchez Monge y Parellada E. Diccionario de plantas agrícolas. Madrid (España): Ministerio de Agricultura Servicio de Publicaciones Agrarias; 1980.
 40. Ariza E, Polanco R, Yepes A, Suárez Á. Territorio, cultura y paisajes Sikuani, Piaroa, Piapoco, Curripaco, Puinave. Cumaribo (Colombia): Instituto Colombiano de Antropología e Historia; 2006.
 41. Murray S. Silvicultura Urbana y Periurbana en Quito, Ecuador: Estudio de Caso. Roma: Departamento de Montes Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación; 1998. [citado 2010 marzo 30]. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/w7445s/w7445s09.htm>.
 42. Biblioteca Luis Ángel Arango. “Capítulo VI feculentas “. Colombia: Banco de la República; 2010. [citado 2010 marzo 27]. Disponible en: <http://www.lablaa.org/blaavirtual/historia/puti/puti6a.htm>.
 43. Arango R, Sánchez E. Los pueblos indígenas de Colombia en el umbral del nuevo milenio: población, cultura y territorio. Bogotá (Colombia): Departamento Nacional de Planeación; 2004.
 44. Sangronis E, Teixeira P, Otero M, Guerra M, Hidalgo G. Manaca, batata y ñame: posibles sustitutos del trigo en alimentos para dos etnias del Amazonas venezolano. Arch Latinoamer Nutr. 2006; 56(1):77-82.
 45. Asociación de Cabildos Indígenas del Norte del Cauca (ACIN). Recetas con alimentos nativos tradicionales nasa y plantas silvestres. Jambaló (Colombia): Programa de Salud Alcaldía Municipal; 1999.
 46. Federación de productores de arroz. Frijol capishuna: Excelente opción como abono verde. Bogotá (Colombia): Fedearroz; 2007. [citado 2010 marzo 23]. Disponible en: http://www.fedearroz.com.co/correo/202_art.shtml#2.
 47. Chacón E. Cazadores de hormigas culonas. Colombia: El tiempo; 1999. [citado 2010 marzo 27]. Disponible en: <http://www.eltiempo.com/archivo/documento/MAM-866262>.
 48. Tobar LF, Chinchilla M. Geografía humana de Colombia: Variación biológica y cultural en Colombia. Bogotá (Colombia): Instituto Colombiano de Cultura Hispánica Guadalupe; 2000.

Recibido: 29-04-2010

Aceptado: 12-09-2010

Estado nutricional, estilo de vida e risco cardiovascular de ovolactovegetarianos e onívoros

Keila Fernandes Dourado, Florisbela de Arruda Câmara e Siqueira Campos, Hernando Flores Rojas, Shirley Kelly dos Santos Simões, Leonardo Pereira de Siqueira

Departamento de Nutrição, Centro de Ciências da Saúde, UFPE. Recife, PE, Brasil. Departamento de Tecnologia Rural, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). Recife, PE, Brasil

RESUMO. O objetivo do presente trabalho foi avaliar características sócioeconômicas, estilo de vida, consumo alimentar, estado nutricional e o risco cardiovascular através de indicadores antropométricos de obesidade central de ovolactovegetarianos e onívoros. Para cada ovolactovegetariano foram selecionados dois onívoros de mesmo sexo e idade semelhante, visando ao pareamento das amostras nesses critérios e ao aumento do poder dos testes estatísticos. A amostra foi composta por 87 indivíduos, sendo 29 ovolactovegetarianos e 58 onívoros, com média geral de idade de 40 ± 13 anos e 58,6% do sexo masculino. Dentro das características sócioeconômicas, apenas o número de moradores por domicílio diferiu; os ovolactovegetarianos apresentaram um percentual maior na categoria de 5 ou mais pessoas. Quanto ao estilo de vida, os grupos diferiram apenas no hábito do tabagismo ($p < 0,001$), onde os onívoros apresentaram maior proporção de fumantes. Não houve diferença significativa nos valores médios entre os grupos em nenhuma das variáveis antropométricas estudadas. Nas variáveis de consumo, não foi encontrada diferença na ingestão calórica, porém o consumo de proteínas, lipídios totais, gordura saturada e colesterol foram maiores na dieta dos onívoros. Já o consumo de carboidratos e fibras foi maior nos ovolactovegetarianos. O presente estudo sugere que embora o perfil de consumo alimentar entre os ovolactovegetarianos seja considerado mais saudável, pelo menor consumo de gordura total, ácidos graxos saturados e colesterol, quando o estilo de vida e o consumo calórico total são semelhantes não há diferenças significativas no estado nutricional e nos indicadores antropométricos de risco cardiovascular.

Palavras chave: Vegetarianos, estilo de vida, obesidade.

INTRODUÇÃO

Os danos para a saúde que podem decorrer do consumo insuficiente de alimentos – desnutrição – ou do consumo excessivo – obesidade – são há muito conhecidos. Apenas mais recentemente, entretanto, apareceram evidências de que características qualitativas da dieta são igualmente importantes

SUMMARY. Nutritional status, lifestyle and cardiovascular risk in lacto-ovo vegetarians and omnivores. The aim of the present study was to assess socioeconomic characteristics, dietary intake, nutritional status and cardiovascular risk (using anthropometric indicators of central obesity) in lacto-ovo vegetarians and non-vegetarians. Two non-vegetarians were selected for each vegetarian (paired for gender and age) in order to increase the power of the statistical tests. The sample was made up of 87 individuals (58.6% males; 29 vegetarians and 58 non-vegetarians) with a mean age of 40 ± 13 years. Among the socioeconomic characteristics, only the number of residents per household differed between groups, with a greater percentage of homes with five or more residents in the vegetarian group. Concerning lifestyle, the groups differed with regard to smoking habits ($p < 0.001$), with a higher proportion of smokers among the non-vegetarians. There were no significant differences between groups in any of the anthropometric variables studied. Concerning dietary intake, no difference between groups was found with regard to total calorie intake, but the consumption of proteins, total lipids, saturated fat and cholesterol was higher among the non-vegetarians, whereas carbohydrate and fiber intake was higher among the vegetarians. The results of the present study suggest that, although a lacto-ovo vegetarian diet is considered healthier due to the lower consumption of total fat, saturated fatty acids and cholesterol, there are no significant differences in nutritional status or anthropometric indicators of cardiovascular risk when lifestyle and total calorie intake are similar.

Key words: Vegetarians, lifestyle, obesity.

na definição do estado de saúde, em particular no que se refere a doenças da idade adulta (1).

A relação entre alimentação e doenças em grupos específicos, como o dos vegetarianos, tem requerido atenção dos estudiosos. Se no passado o interesse era o de se evidenciar os problemas causados pela deficiência de alguns nutrientes, hoje é evidente a tendência em se estudar os possíveis benefícios para a saúde de uma alimentação estritamente ou parcialmente de origem vegetal, como no caso da dieta ovolactovegetariana (2).

O vegetarianismo é a prática alimentar onde se excluem total ou parcialmente os alimentos de origem animal.

O estudo foi realizado pelo Departamento de Nutrição do Centro de Ciências da Saúde (CCS). Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) – Brasil. Não contou com nenhum tipo de financiamento nem por agências públicas ou privadas.

Dependendo da inclusão dos derivados animais, o vegetariano recebe uma terminologia distinta. Assim, os Vegetarianos reritos ou puros ou veganos, não consomem produtos de origem animal; os Lactovegetarianos consomem leite e seus derivados e os Ovolactovegetarianos além dos produtos lácteos também consomem ovos (3).

Atualmente, o número de indivíduos que se alimentam exclusivamente de alimentos de origem vegetal é muito pequeno no mundo, porém vem crescendo os adeptos ao vegetarianismo. Em 2000, aproximadamente 2,5% da população adulta dos Estados Unidos seguiam regularmente uma dieta vegetariana (4). Já no Brasil não há estudos de prevalência e, assim como em outros países em desenvolvimento, não é conhecido o número de adeptos à alimentação vegetariana (2).

Dados epidemiológicos sugerem que indivíduos com dietas ricas em frutas e vegetais apresentam menor risco de doenças crônicas e mortalidade que aqueles com dietas pobres em alimentos de origem vegetal (5). Estes efeitos podem ser atribuídos à dieta, assim como a outras características de estilo de vida, como manutenção do peso desejável, atividade física regular e abstinência de cigarro e álcool (4).

A prevalência de obesidade vem aumentando rapidamente nas últimas décadas, sendo caracterizada como uma verdadeira epidemia mundial; fato preocupante, já que a obesidade, particularmente a obesidade central, é fator de risco para o desenvolvimento de diabestes mellitus, dislipidemia e hipertensão arterial, condições que favorecem o desenvolvimento de doenças cardiovasculares; além de estar associada com a redução substancial da expectativa de vida (6).

Estudos demonstram que os indicadores de obesidade central são mais associados ao risco coronariano elevado do que os de obesidade total (7,8). Os indicadores mais utilizados na aferição da distribuição centralizada do tecido adiposo são a circunferência da cintura (CC) e a razão cintura/quadril (RCQ) (9); e sugere-se que a razão cintura/estatura (RCEst) também é um bom discriminador de obesidade central relacionada a fatores de risco cardiovasculares (10).

Duas extensivas revisões de estudos observacionais, que avaliaram diversos padrões alimentares, sugerem que dietas baseadas em alimentos de origem vegetal, com alto consumo de alimentos ricos em fibras como vegetais, frutas, cereais, grãos integrais e legumes, são inversamente relacionadas ao índice de massa corporal (IMC), sobrepeso e obesidade (11,12).

Dentro deste contexto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar algumas características sócioeconômicas, do estilo de vida, o estado nutricional e o risco cardiovascular através de indicadores antropométricos de obesidade central de ovolactovegetarianos e onívoros.

MATERIAIS E MÉTODOS

Desenho do estudo

Estudo de corte transversal entre 29 indivíduos ovolactovegetarianos e 58 onívoros adultos e idosos, do sexo masculino e feminino, que participaram voluntariamente da pesquisa assinando o termo de consentimento livre e esclarecido. A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa envolvendo Seres Humanos do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) - Brasil, de acordo com a Resolução no 196/96 do Conselho Nacional de Saúde, registro nº 053/07.

Foram classificados ovolactovegetarianos os indivíduos que, durante o estudo, relataram não consumir carnes, vermelha ou branca, há pelo menos 1 ano e classificados como onívoros aqueles que relataram não fazer restrição ao uso de carnes. Os ovolactovegetarianos foram convidados a participar do estudo a partir da divulgação de intenção de pesquisa em restaurantes naturais e/ou vegetarianos, nos bairros circunvizinhos a UFPE.

Para cada ovolactovegetariano foram selecionados dois onívoros de mesmo sexo e idade semelhante, visando ao pareamento das amostras nesses critérios e ao aumento do poder dos testes estatísticos a serem realizados. Os onívoros também foram recrutados nos bairros circunvizinho a UFPE e incluídos na pesquisa quando atendiam aos critérios de sexo e idade.

Foram excluídos do estudo indivíduos que apresentassem limitações físicas, temporárias ou permanentes, que impossibilitassem a avaliação antropométrica.

Os dados foram coletados no período compreendido entre julho de 2007 e agosto de 2009 por profissional nutricionista e/ou graduandos em nutrição devidamente treinados.

Análise sócioeconômica e estilo de vida

Foram coletadas informações quanto às características sócioeconômicas tais como: idade, escolaridade, ocupação, renda familiar em salários mínimos e número de moradores por domicílio. Com relação ao estilo de vida, questões sobre a prática de atividade física, tabagismo, uso de bebidas alcoólicas e de suplementos foram levantadas. Para a determinação de prática de atividade física regular foi considerado o tempo de pelo menos trinta minutos por dia e frequência mínima de três vezes por semana. Foi considerado tabagista o indivíduo que declarou estar fumando no dia da entrevista, independente do número de cigarros.

Análise antropométrica

A avaliação antropométrica constou da avaliação de peso, altura, circunferência da cintura (CC) e circunferência do quadril (CQ) dos participantes. As medidas de peso e altura foram realizadas segundo a técnica original recomendada por Lohman (13). Os participantes foram pesados utilizando-se

uma balança, tipo plataforma, da marca FILIZOLA, com capacidade para 150 kg e precisão de 100g e a altura foi medida através do estadiômetro de madeira, marca WCS® modelo WOOD transportável com capacidade para 2,20m e precisão de 1cm. Para obtenção das CC e CQ foi utilizada uma fita métrica inextensível de fibra de vidro com escala de 0-200 cm e resolução de 0,1cm.

A CC foi obtida no ponto médio entre a última costela e a crista ilíaca e a circunferência do quadril, foi obtida na região de maior perímetro entre o quadril e as nádegas (14).

O diagnóstico do excesso de peso foi realizado pelo IMC de acordo com os valores indicados pela OMS (15), para adultos e segundo a classificação de Lipschitz (16), para os idosos.

O ponto de corte utilizado para classificação da CC foi o recomendado pela OMS (15), no qual define obesidade central como CC = 94 cm e = 80 cm para homens e mulheres, respectivamente. Para a RCEst foi adotado como ponto de corte para definição de obesidade central o valor = 0,5 para ambos os sexos (17).

A RCQ foi obtida a partir de valores da CC (cm) e CQ (cm), uma razão igual ou superior a 1,0 para os homens e 0,85 para as mulheres é indicativa de risco para doença cardiovascular (18).

Análise do consumo alimentar

O dados sobre o consumo alimentar foram coletados em formulário de registro alimentar de três dias, sendo dois dias durante a semana e um dia do fim de semana. O programa utilizado para análise do registro alimentar foi o Dietpro5i (Agromídia Software Ltda 2007). Após a análise foi determinada a média dos três dias de consumo de cada participante.

Análises estatísticas

A construção do banco de dados foi realizada no Excel e os cálculos estatísticos realizados no programa SPSS (Statistical Package for the Social Sciences, versão 15.0 2006; SPSS, Inc, Chicago). Para análise dos dados foram obtidas distribuições absolutas e percentuais e a média e desvio padrão. Foram utilizados os testes Qui-quadrado de Pearson ou Exato de Fisher, desde quando as condições para utilização do teste Qui-quadrado não foram verificadas, t-Student pareado, t-Student com variâncias iguais ou desiguais e t-Student para a hipótese de correlação nula na população. Ressalta-se que a verificação da hipótese de igualdade de variâncias foi realizada através do teste F de Levene e que para aplicação do teste t-Student pareado foi utilizado a média dos dois pesquisados que formavam o par no grupo dos onívoros. O nível de significância utilizado na decisão dos testes estatísticos foi de 5,0%.

RESULTADOS

A amostra composta por 87 indivíduos, sendo 29 ovolactovegetarianos e 58 onívoros, teve média geral de idade de 40 ± 13 anos e 58,6% eram do sexo masculino. A média de tempo de adesão à dieta ovolactovegetariana foi de 16 ± 12 anos.

Na Tabela 1 estão apresentadas as características sócio-econômicas dos grupos estudados. Não foi encontrada diferença significativa em relação à escolaridade, ocupação e renda familiar em salários mínimos. A única variável com diferença significante entre os grupos foi registrada para o número de moradores por domicílio ($p = 0,01$), sendo que o percentual com 5 ou mais pessoas foi mais elevado entre os vegetarianos (48,3% x 19,0%), seguido de 3 a 4 pessoas, com valor mais elevado entre os onívoros (58,6% x 31,0%).

TABELA 1
Características sócioeconômicas segundo tipo de alimentação (Ovolactovegetariana e onívora).
Recife/PE – 2007/2009

Variáveis	Grupos				p
	Ovolacto vegetarianos		Onívoros		
	n	%	n	%	
Escolaridade					
Analfabeta	-	-	2	3,4	1,000
Fundamental incompleto	2	6,9	3	5,2	
Fundamental completo/médio incompleto	4	13,8	8	13,8	
Médio completo/superior	23	79,3	45	77,6	
Ocupação					
Sem ocupação definida	1	3,4	1	1,7	0,597
Do lar	-	-	3	5,2	
Com ocupação definida	28	96,6	54	93,1	
Renda Familiar (SM)‡					
< 2	3	10,3	3	5,2	0,454
2 a < 4	6	20,7	16	27,6	
4 a < 8	12	41,4	17	29,3	
8 ou mais	8	27,6	22	37,9	
Número de moradores por domicílio					
Até 2	6	20,7	13	22,4	0,012*
3 a 4	9	31,0	34	58,6	
5 ou mais	14	48,3	11	19,0	
Grupo Total	29	100,0	58	100,0	

* Diferença significativa a 5,0% (Qui-quadrado de Pearson ou Exato de Fisher); ‡ SM Salário Mínimo de referência = R\$ 422,50 (US\$ 239,78) – Média dos valores referentes aos meses de julho de 2007 a janeiro de 2009 (R\$ 380,00/US\$ 215,66) e fevereiro a agosto de 2009 (R\$ 465,00/US\$ 263,90).

Os dados relacionados ao estilo de vida estão representados na Tabela 2. O percentual de praticantes de atividades físicas e a utilização de suplementos foi maior nos ovolacto vegetarianos, porém sem diferença significativa em relação aos onívoros. Observa-se diferença significativa apenas no hábito do tabagismo ($p < 0,001$), onde a maior proporção de fumantes encontra-se no grupo dos onívoros com 29 indivíduos, 50% dos indivíduos, e apenas 1 indivíduo fumante no grupo ovolactovegetariano.

TABELA 2

Características relacionadas ao estilo de vida segundo tipo de alimentação (Ovolactovegetariana e onívora). Recife/PE – 2007/2009

Variáveis	Grupos				p
	Ovolacto vegetarianos		Onívoros		
	n	%	n	%	
Prática de atividades físicas					
Sim	14	48,3	20	34,5	0,214
Não	15	51,7	38	65,5	
Uso de suplementos					
Sim	8	27,6	7	12,1	0,071
Não	21	72,4	51	87,9	
Tabagismo					
Sim	1	3,4	29	50,0	<0,001*
Não	28	96,6	29	50,0	
Etilismo					
Sim	-	-	7	12,1	0,090
Não	29	100,0	51	87,9	
Grupo Total	29	100,0	58	100,0	

* Diferença significativa a 1,0% (Qui-quadrado de Pearson ou Exato de Fisher).

Os indicadores antropométricos e de consumo estão representados na Tabela 3. Observa-se que não houve diferença significativa nos valores médios entre os grupos em nenhuma das variáveis antropométricas estudadas. Nas variáveis de consumo, não foi encontrada diferença na ingestão calórica, porém o consumo de proteínas, lipídios, gordura saturada e colesterol foi maior na dieta dos onívoros. Já o consumo de carboidratos e fibras foi maior nos ovolactovegetarianos.

Na Tabela 4 e 5 observa-se que também não houve diferença significativa na classificação do estado nutricional pelo IMC e de risco cardiovascular, pelos indicadores antropométricos de obesidade central, quando se separou por sexo nos dois grupos estudados.

TABELA 3

Indicadores antropométricos e de consumo alimentar segundo tipo de alimentação (Ovolactovegetariana e onívora). Recife/PE – 2007/2009

Variáveis	Grupos		p
	Ovolacto vegetarianos (n = 29)	Onívoros (n = 58)	
IMC (kg/m ²)	23,98 ± 3,57	24,42 ± 3,62	0,554
CC (cm)*	80,38 ± 10,70	82,51 ± 9,56	0,294
RCQ‡	0,82 ± 0,08	0,84 ± 0,08	0,180
RCEst‡	0,49 ± 0,06	0,51 ± 0,05	0,125
Calorias (kcal)	2296,50 ± 726,12	2382,43 ± 548,32	0,540
Lipídios (%VET)**	25,79 ± 5,45	32,10 ± 3,74	<0,001††
Gordura saturada (%VET)**	8,37 ± 2,51	10,22 ± 1,85	0,003††
Colesterol (mg)	158,58 ± 108,51	367,24 ± 159,61	<0,001††
Proteínas (%VET)**	15,06 ± 2,53	18,16 ± 1,74	<0,001††
Carboidratos (%VET)**	59,15 ± 5,72	49,73 ± 4,13	<0,001††
Fibras (g)	32,02 ± 13,99	24,26 ± 9,41	0,015‡‡

Valores apresentados como média ± desvio padrão; *CC Circunferência da cintura; ‡ RCQ Razão cintura quadril; † RCEst Razão cintura estatura; ** VET Valor Energético Total; †† Diferença significativa a 1% (Através do t-Student pareado); ‡‡ Diferença significativa a 5,0% (Através do t-Student pareado).

TABELA 4

Classificação do estado nutricional e risco cardiovascular por indicadores antropométricos de acordo com o sexo nos indivíduos Ovolacto vegetarianos. Recife/PE – 2007/2009

Grupos	Variáveis	Sexo		P
		Masculino n	Feminino n	
Ovolacto vegetarianos	IMC			
	Desnutrido	-	2	11,8
	Normal	7	11	64,7
	Sobrepeso/Obeso	5	4	23,5
	CC‡			
	Normal	10	12	70,6
	Alterado	2	5	29,4
	RCQ‡			
	Normal	11	16	94,1
	Alterado	1	1	5,9
	RCEst**			
	Normal	7	11	64,7
Alterado	5	6	35,3	
Grupo Total	12	100,0	17	100,0

* Análise através do teste Exato de Fisher. ‡ CC Circunferência da cintura; ‡ RCQ Razão cintura quadril; ** RCEst Razão cintura estatura.

TABELA 5

Classificação do estado nutricional e risco cardiovascular por indicadores antropométricos de acordo com o sexo nos indivíduos Onívoros. Recife/PE – 2007/2009

Grupos	Variáveis	Sexo				P
		Masculino		Feminino		
		n	%	n	%	
Onívoros	IMC					
	Desnutrido	-	-	4	11,8	0,269*
	Normal	13	54,2	15	44,1	
	Sobrepeso/ Obeso	11	45,8	15	44,1	
	CC‡					
	Normal	17	70,8	18	52,9	0,170‡
	Alterado	7	29,2	16	47,1	
	RCQ**					
	Normal	22	91,7	26	76,5	0,171*
	Alterado	2	8,3	8	23,5	
	RCEst††					
	Normal	9	37,5	17	50,0	0,346‡
	Alterado	15	62,5	17	50,0	
	Grupo Total		24	100,0	34	100,0

* Análise através do teste Exato de Fisher. ‡ CC Circunferência da cintura; † Análise através do teste Qui-quadrado de Pearson; ** RCQ Razão cintura quadril; †† RCEst Razão cintura estatura.

DISCUSSÃO

Appleby et al. (19) em estudo conduzido na Inglaterra observaram menor mortalidade nos vegetarianos quando comparada com a população em geral, porém similares àquelas de não vegetarianos com estilo de vida semelhante, sugerindo que muitos destes benefícios atribuídos aos vegetarianos podem ser decorrentes de fatores não dietéticos do estilo de vida, tais como uma baixa prevalência de tabagismo, condição sócioeconômica geralmente mais elevada, ou aos aspectos da dieta, com exceção da não ingestão de carne.

As características sócioeconômicas avaliadas nos dois grupos estudados apresentaram-se semelhantes, ou seja, o nível de escolaridade, ocupação e renda familiar mensal não apresentaram diferença, apenas o número de moradores por domicílio diferiu, foi maior nos ovolactovegetarianos. Como a renda familiar mensal foi semelhante entre os grupos e o número de moradores por domicílio foi menor nos onívoros, a renda per capita apresentou-se maior nos onívoros; fato este discordante do estudo de Appleby et al. (19) anteriormente citado, onde sugere condições sócioeconômicas mais elevada na população vegetariana.

No presente estudo entre os fatores não dietéticos relacionados ao estilo de vida, o único que apresentou diferença significativa foi o percentual de fumantes, que foi maior no grupo dos onívoros, achado que corrobora com o estudo de

Barr et al. (20), onde os vegetarianos, de ambos os sexos, fumavam menos que os onívoros.

Com relação aos aspectos relacionados à dieta, apenas o consumo calórico foi semelhante nos dois grupos estudados. Os ovolactovegetarianos apresentaram menor consumo de proteínas, lipídios, gordura saturada e colesterol, apesar de também consumirem alimentos ricos nesses nutrientes como ovos, leite e derivados; e maior consumo de carboidratos e fibras. Dados estes que corroboram com os achados de vários estudos da literatura (20-22).

A associação entre o alto consumo de vegetais e frutas e o baixo risco para doenças crônicas não transmissíveis é reportada por estudos epidemiológicos; e há diversas razões biológicas que podem explicar esta associação com os alimentos de origem vegetal. Por serem fontes de uma variedade de nutrientes, incluindo vitaminas, minerais, fibras e muitas outras classes de compostos biológicos ativos, exercem mecanismos complementares e sobrepostos, incluindo a modulação de enzimas de detoxicação, estimulação do sistema imune, redução da agregação plaquetária, modulação da síntese de colesterol e do metabolismo de hormônios, redução da pressão sanguínea, ação antioxidante e antibacteriana, efeitos antivirais e mecanismos de prevenção de doenças em potencial (23).

Estudos epidemiológicos frequentemente determinam que os vegetarianos são mais magros que os não vegetarianos (24-26), porém essa diferença não foi encontrada entre os participantes do estudo, agrupados ou separados pelo sexo, onde a classificação do estado nutricional pelo IMC foi semelhante.

O menor IMC dos vegetarianos detectados em vários estudos poderia ser justificado pelo fato de alguns estudos não analisarem os dados por divisão de gênero e idade, onde a maioria dos vegetarianos voluntários são mulheres (20) e a maior parte dos onívoros pesquisados possuem idade mais avançada (25). Sendo assim, é necessário que os estudos sejam conduzidos por gênero e idade para uma real avaliação do estado nutricional desses indivíduos.

Barr et al. (27), estudando mulheres vegetarianas e onívoras, encontraram resultados semelhantes ao presente estudo, onde o IMC das mulheres foi semelhante nos grupos como também o consumo energético e a prática de exercícios físicos.

Teixeira et al. (2) analisando o estado nutricional de 67 vegetarianos e 134 onívoros, pareados por sexo e idade, detectaram menores valores IMC, CC e RCQ nos vegetarianos de ambos os sexos, conferindo um menor risco cardiovascular. Barr et al. (20) estudando mulheres vegetarianas e onívoras inglesas também encontraram diferença significativa nos valores de IMC e CC, onde os valores menores foram detectados nas vegetarianas. Recentemente, Wang e Beydoun (28) observaram uma associação positiva entre consumo de

carne e obesidade total e central, através do IMC e CC, em homens e mulheres adultos nos Estados Unidos.

Philips et al. (29), investigando se a mudança para uma dieta vegetariana por seis meses levaria a mudanças nas medidas antropométricas, observaram uma redução significativa na RCEst, mesmo não havendo uma redução significativa no peso corporal.

Com relação aos indicadores antropométricos de obesidade central estudados, não houve diferença entre os onívoros e ovolactovegetarianos; achados que discordam dos poucos estudos disponíveis na literatura (2,20,28,29).

Uma explicação plausível para os onívoros e ovolactovegetarianos deste estudo terem apresentado estado nutricional semelhante pelo IMC e também apresentarem a mesma classificação de risco cardiovascular pelos indicadores de obesidade central seria o fato do consumo de energia e a prática de atividade física também terem sido semelhantes nos dois grupos.

Quanto às limitações encontradas no estudo, uma das mais importantes foi o não comparecimento de todos os vegetarianos elegíveis. O não preenchimento correto do registro de consumo alimentar de três dias, embora tenha sido explicado todo o procedimento por profissional devidamente treinado, também foi limitação encontrada na pesquisa.

As dietas vegetarianas em geral são consideradas saudáveis e associadas a um menor risco para várias doenças crônicas, entretanto nem todos os tipos de dietas vegetarianas podem proporcionar os mesmos efeitos na saúde (30). Portanto, é importante o estudo dos diferentes tipos de vegetarianismo isoladamente para melhor compreender seus efeitos sobre a saúde.

O presente estudo sugere que embora o perfil de consumo alimentar entre os ovolactovegetarianos seja considerado mais saudável, pelo menor consumo de gordura total, ácidos graxos saturados e colesterol, quando o estilo de vida e o consumo calórico total são semelhantes não há diferenças significativas no estado nutricional e nos indicadores antropométricos de risco cardiovascular.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Laboratório de Bioquímica da Nutrição do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) e ao Programa de Pós-graduação em Nutrição da UFPE pelo incentivo intelectual e disponibilização de materiais para realização do estudo em questão.

REFERÊNCIAS

- Monteiro CA, Mondini L, Costa RBL. Mudanças na composição e adequação nutricional da dieta familiar nas áreas metropolitanas do Brasil (1988-1996). *Rev Saúde Públ* 2000;34(3):251-58.
- Texeira RCMA, Molina MCB, Flor DS, Zandonade E, Mill JG. Estado nutricional e estilo de vida em vegetarianos e onívoros – Grande Vitória – ES. *Rev Bras Epidemiol* 2006;9(1):131-43.
- Pimentel D, Pimentel M. Sustainability of meat-based and plant-based diets and environment. *Am J Clin Nutr* 2003; 78 (Suppl): S660-3.
- Ada Reports. Position of the American Dietetic Association and Dietitians of Canada: Vegetarian diets. *J Am Diet Assoc* 2003; 103(6):748-65.
- Agudo A, Cabrera L, Amiano P, Ardanaz E, Barricarte A, Berenguer T, et al. Fruit and vegetable intakes, dietary antioxidant nutrients, and total mortality in Spanish adults: findings from the Spanish cohort of the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC-Spain). *Am J Clin Nutr* 2007;85: 1634-42.
- Pérez AP, Muñoz JY, Cortés VB, Velasco PP. Obesity and cardiovascular disease. *Public Health Nutr* 2007; 10: 1156-63.
- Pitanga FJG; Lessa, I. Associação entre indicadores antropométricos de obesidade e risco coronariano em adultos na cidade de Salvador, Bahia, Brasil. *Rev Bras Epidemiol* 2007; 10:239-48.
- Pitanga FJG, Lessa I. Indicadores Antropométricos de Obesidade como Instrumento de Triagem para Risco Coronariano Elevado em Adultos na Cidade de Salvador – Bahia. *Arq Bras de Cardiol* 2005; 85(1): 26-31.
- World Health Organization. Physical status: the use and interpretation of anthropometry. Geneva: World Health Organization Technical Report Series: Geneva. 1995; 854.
- Ho S, Hinglam T, Janus E. Waist to stature ratio is more strongly associated with cardiovascular risk factors than other simple anthropometric indices. *Ann Epidemiol*. 2003; 13(10):683–91.
- Newby PK, Tucker KL. Empirically derived eating patterns using factor or cluster analysis: a review. *Nutr Rev* 2004; 62:177-203.
- Togo P, Osler M, Sorensen TI, Heitmann BL. Food intake patterns and body mass index in observational studies. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2001; 25:1741-51.
- Lohman TG, Roche A, Martorell R. Anthropometric stadization reference manual. Human Kinetics Publishers. Champaign, Illinois, 1991.
- Martins IS, Marinho SP. O potencial diagnóstico dos indicadores da obesidade centralizada. *Rev Saúde Publ*. 2003; 37(6):760-7.
- World Health Organization. Obesity: preventing and managing the global epidemic of obesity: report of a WHO consultation on obesity. Geneva: World Health Organization: Geneva, 1998.
- Lipschitz DA. Screening for nutritional status in the elderly. *Primary care*. 1994; 21: 55-67.
- Hsieh SD, Muto T. The superiority of waist-to-height ratio as an anthropometric index to evaluate clustering of coronary risk factors among non-obese men and women. *Preventive Medicine*. 2005; 40: 216–20.
- World Health Organization. Obesity: preventing and managing the global epidemic: report of a WHO consultation on obe-

- sity. Geneva: World Health Organization: Geneva, 1997.
19. Appleby PN, Thorogood M, Mann JI, Key TJA. The oxford vegetarian study: an overview. *Am J Clin Nutr* 1999; 70 (Suppl): S525-31.
 20. Barr SI, Bedford JL. (2005) Diets and selected lifestyle practices of self-defined adult vegetarians from a population-based sample suggest they are more "health conscious". *Int J Behav Nutr Phys Act* 2005; 2,4. <http://www.ijbnpa.org/content/2/1/4>.
 21. Sanders TAB, Reddy S. Nutritional implications of a meatless diet. *Proc Nutr Soc* 1994; 53: 297-307.
 22. Sander TAB. The nutritional adequacy of plant-based diets. *Proc Nutr Soc* 1999; 58:265-69.
 23. Lampe JW. Health effects of vegetables and fruit: assessing mechanisms of action in human experimental studies. *Am J Clin Nutr* 1999; 70 (Suppl): S475-90.
 24. Appleby PN, Thorogood M, Mann JI, Key JT. Low body mass index in non-meat eaters: the possible roles of animal fat, dietary fibre and alcohol. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1998; 22:454-60.
 25. Davey GK, Spencer EA, Appleby PN, Allen NE, Knox KH, Key TJ. EPIC-Oxford: lifestyle characteristics and nutrients intakes in a cohort of 33883 meat-eaters and 31546 non meat-eaters in the UK. *Public Health Nutr* 2003; 6:259-69.
 26. Fraser GE. Associations between diet and cancer, ischemic heart disease, and all-cause mortality in non-Hispanic white California Seventh-day Adventists. *Am J Clin Nutr* 1999; 70 (Suppl): S532-8.
 27. Barr SI, Broughton TM. Relative weight, weight loss efforts and nutrient intakes among health-conscious vegetarian, past vegetarian and nonvegetarian women ages 18 to 50. *J Am Coll Nutr* 2000;19(6):781-8.
 28. Wang Y, Beydoun MA. Meat consumption is associated with obesity and central obesity among US adults. *Int J Obes* 2009; 33:621-8.
 29. Philips F, Hackett AF, Stratton G, Billington D. Effect of changing to a self-selected vegetarian diet on anthropometric measurements in UK adults. *J Hum Nutr Diet* 2004; 17:249-55.
 30. Fraser GE. Vegetarian diets: what do we know of their effects on common chronic diseases?. *Am J Clin Nutr* 2009; 89 (Suppl): S1607-12.

Recibido: 24-03-2010

Aceptado: 03-08-2010

Consumo alimentar e concentrações intra-eritrocitárias de folato em mulheres do Recife, Nordeste do Brasil

Janaina Almeida Dantas, Alcides da Silva Diniz e Ilma Kruze Grande de Arruda

Universidade Federal do Pernambuco/UFPE. Brasil

RESUMO. Foi avaliado o consumo e concentrações intra-eritrocitárias de folato em mulheres do Recife, Nordeste, Brasil, mediante estudo de corte transversal, envolvendo 360 mulheres, de 15 a 45 anos, aleatoriamente rastreadas, por amostragem em dupla etapa, de 9 Unidades Públicas de Saúde, em 2007-2008. O consumo de folato foi avaliado pelo Questionário de Frequência Alimentar Quantitativo e comparado com os valores da *Dietary Reference Intakes-DRI's*. O status orgânico de folato foi avaliado pelas concentrações intra-eritrocitárias. A media geométrica do consumo diário de folato foi 627,1[IC_{95%} 600,4-655,0] µg/dia. A frequência de mulheres com risco de ingestão de folato abaixo da recomendação foi 16,0% para adolescentes (<330µg/dia) e 6,3% para adultas jovens (<320µg/dia). A prevalência de mulheres cujo consumo excedeu o limite máximo tolerável de ingestão foi de 48,0% (>800µg/dia) e 13,7% (>1000µg/dia) para adolescentes e adultas, respectivamente. A média das concentrações de folato eritrocitário foi de 1797,8 ± 357,1 nmol/L. O consumo de alimentos-fonte de folato não mostrou correlação com as concentrações eritrocitárias (r= 0,058 e p= 0,274). Maiores concentrações de folato eritrocitário foram observadas em mulheres adultas jovens (p= 0,004) e entre aquelas com renda até dois salários mínimos (p= 0,042). Nas mulheres do Recife, tanto o consumo de alimentos-fonte de folato como as concentrações eritrocitárias de folato elevaram-se em patamares superiores às recomendações internacionais.

Palavras chave: Consumo alimentar, mulheres, folato, fortificação, folato eritrocitário.

INTRODUÇÃO

O folato é uma vitamina B importante para o metabolismo, uma vez que está envolvida em um grande número de reações bioquímicas essenciais à vida (1). A compreensão do seu papel metabólico tem alcançado destaque no âmbito da saúde pública (2). Admite-se, de forma apriorística, que depois da deficiência primária ou secundária de ferro, o segundo fator em importância etiológica da anemia, principalmente na gravidez, seria a deficiência de ácido fólico. Mulheres em idade reprodutiva constituem um grupo vulnerável à deficiência de folato (3). Uma ingestão inadequada nesse período parece estar associada a uma maior incidência de más formações congênitas (4). Publicações científicas sobre as causas dos defeitos de fechamento do tubo neural são menos numerosas porém muitas afirmações consensuais baseadas em evidências clínicas

SUMMARY. Folate food intake and red blood cell folate concentrations in women from Recife, Northeast of Brazil. Folate food intake and red blood cell folate concentrations were assessed in women from Recife, Northeast Brazil. Following a two stages sampling procedure, a cross-sectional study was carried out involving 360 women, between 15-45y, attending in nine Health Care Public Unit in 2007-2008. Folate intake was evaluated by a Quantitative Food Frequency Questionnaire, and compared with the values of the *Dietary Reference Intakes- DRI's*. Folate status was evaluated by red blood cell folate concentrations. Geometric mean of folate intake was 627.1[IC_{95%} 600.4-655.0] µg/day. The frequency of women at risk for folate intake below the recommendation was 16.0% for adolescents (<330µg/ day) and 6.3% for young adult (<320µg/ day). The prevalence of women whose consumption exceeds the maximum tolerable intake was 48.0% (> 800µg/ day) and 13.7% (> 1000µg/ day) for adolescents and adults, respectively. The mean of red blood cell folate concentrations was 1797.8 ± 357.1nmol/L. Folate rich-food intake did not show any correlation with red blood cell folate concentrations (r= 0.058 and p= 0.274). Higher red blood cell folate concentrations were observed in adult young women (p=0.004) and among those with income up to two minimum wages (p=0.042). Folate rich-food intake as well as red blood cell folate concentrations among women from Recife were above the international recommendations.

Key words: Food consumption, women in reproductive age, folate, fortification, red blood cell folate.

apontam o ácido fólico como um fator de risco para os defeitos do tubo neural. Dados apresentados pela OMS, em 2003, colocaram o Brasil entre os 5 primeiros países com taxas elevadas de anencefalia e espinha bifida.(5)

São evidentes as dificuldades em se alcançar o requerimento de folato com uma dieta isenta de alimentos fortificados. Por sua vez, um aporte adequado dessa vitamina, mediante suplementação no período periconcepcional tem mostrado cobertura limitada e baixa efetividade. Logo, a fortificação de produtos com ácido fólico surge como uma alternativa para promover um aumento na ingestão dessa vitamina entre mulheres em idade reprodutiva. (6). Diante desse cenário, em 2001, o Ministério da Saúde do Brasil tornou obrigatória a adição de ferro (4,2 mg/100g) e ácido fólico (150 µg) às farinhas de milho e trigo, tendo como pressuposto aumentar a disponibilidade de alimentos ricos em ferro e ácido

fólico para a população e, dessa forma, contribuir para a redução da prevalência de anemia e defeitos do tubo neural no país (7).

São escassas as contribuições na literatura alusivas ao consumo de folato no período periconcepcional. No entanto, estudos de abrangência nacional com gestantes têm demonstrado que o déficit no consumo desse micronutriente é um problema de saúde pública (8-12). Inquéritos dietéticos possibilitam identificar inadequações alimentares e permitem caracterizar hábitos e observar a evolução de uma população ao longo do tempo (13). Já os marcadores bioquímicos minimizam possíveis falhas quando do uso de inquéritos dietéticos, uma vez que refletem a quantidade ingerida e metabolizada de um nutriente (14). O marcador bioquímico de maior validade para avaliar as reservas de folato é a sua concentração nos eritrócitos, pois pode refletir o *status* da vitamina em longo prazo (15,16).

São desconhecidas, até o momento, investigações no contexto brasileiro que avaliaram o consumo de folato e suas concentrações eritrocitárias em mulheres em idade reprodutiva, após a implantação do programa de fortificação mandatória das farinhas de trigo e milho com ferro e ácido fólico.

Este estudo teve por objetivo avaliar o consumo alimentar de folato e as concentrações intra-eritrocitárias dessa vitamina em mulheres em idade reprodutiva atendidas nas Unidades Públicas de Saúde do Recife, Nordeste do Brasil.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foi desenvolvido um estudo de corte transversal, envolvendo mulheres em idade reprodutiva para a avaliação do consumo e concentrações eritrocitárias de folato. Os critérios de elegibilidade foram: idades entre 15 e 45 anos, inclusive, não grávidas e não lactantes, não usuárias de drogas que interferissem no metabolismo do folato e de suplementos vitamínicos contendo ácido fólico ou vitamina B nos últimos três meses, além de ausência de patologias endócrinas, auto-imunes, alterações menstruais e anemia falciforme.

A determinação do tamanho amostral tomou como base para estimativa do número de mulheres que deveriam compor a amostra, uma prevalência de inadequação no consumo de folato de 50,0% (P), com precisão de 8,0% (d) e uma confiabilidade de 95,0% (z). Por se tratar de uma amostra em poli-etapas, foi considerada uma correção do efeito do desenho da ordem de 2,1 (c). O dimensionamento amostral foi calculado a partir da fórmula: $n = z^2 \times P \times (1-P) \times c/d^2$ (17). A amostra mínima foi de aproximadamente 315 mulheres. Para suprir eventuais perdas, fez-se uma correção do tamanho amostral com adição de 15%, resultando numa amostra de 363 mulheres. No total, foram estudadas 360 mulheres. As perdas ocorreram por inadequação do material biológico coletado para análise das concentrações de folato eritrocitário. A seleção da amostra deu-se por conglomerados, em dupla etapa. Do total de

Unidades Básicas de Saúde do município (104) foram selecionadas, no primeiro momento, 9 (nove) Unidades de Saúde e, num segundo momento, foram selecionadas 40 mulheres fidelizadas às respectivas Unidades de Saúde, mediante o uso de uma tabela de números aleatórios, gerada pelo pacote estatístico Epi Info, versão 6.04 (CDC/WHO, Atlanta, GE, USA).

Foram coletados dados sócio-econômicos, mediante o uso das variáveis escolaridade, classificada em números de anos completos de estudo formal, e a renda familiar *per capita*, expressa em salários mínimos (equivalente a US\$ 214,42).

Para avaliação do consumo de folato foi utilizado o Questionário de Frequência Alimentar Quantitativo (QFA), previamente validado (18), com adaptações para alimentos de uso comum na região. O uso do questionário, previamente aplicado no contexto mexicano, ocorreu em virtude de que se trata de um questionário específico para levantar dados sobre o consumo de folato em mulheres em idade reprodutiva, além do fato de que inexistia no Brasil um questionário específico para avaliar consumo de folato nesse grupo populacional. O procedimento para aplicação do referido questionário seguiu todos os passos que configuram o rigor metodológico. O instrumento foi pré-testado em uma sub-amostra (n=30) de mulheres que apresentavam as mesmas características das mulheres incluídas no estudo. O QFA foi aplicado com o auxílio de um álbum com fotos coloridas de utensílios e alimentos, elaborados especificamente para a pesquisa, atendendo recomendações propostas por Medeiros *et al.* (19) e Zaboto *et al.* (20), objetivando uma melhor precisão das quantidades ingeridas. Os resultados foram transformados em gramas utilizando-se as tabelas de Pinheiro *et al.* (21), Fisberg *et al.* (22) e Martins (23), seguindo essa ordem de apresentação. Os alimentos e preparações específicas que foram citados e que não constavam nas referidas tabelas, foram adquiridos em supermercados e pesados em balanças analíticas de precisão (24).

O consumo dietético foi analisado pelo programa DietSys versão 4.01 (National Cancer Institute, Bethesda, MD, USA) que utiliza como base de dados a Tabela de Composição Química de Alimentos do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA) (25). Adotou-se o referido instrumento em virtude de não haver tabelas brasileiras, até o momento, que analisassem alimentos fortificados com ácido fólico, em concentrações que se assemelham às estabelecidas para enriquecimento das farinhas de trigo e milho no Brasil. Alguns alimentos não contidos no programa foram inseridos a partir de dados dos rótulos dos produtos.

Os resultados do consumo de folato foram comparados com os valores da *Dietary Reference Intakes* (DRI's), propostos pelo *Institute of Medicine* (IOM) (26). A amostra foi dividida em duas faixas de idade (15 a 18 anos e 19 anos ou mais) levando em consideração as recomendações da DRI's

para cada grupo. Foram determinados como valores mínimos de ingestão do nutriente os valores de Necessidade Média Estimada (*Estimated Average Requirement – EAR*), considerando-se em risco para ingestão insuficiente de folato as mulheres que não alcançaram a EAR, estabelecida como 330 µg para adolescentes entre 14-18 anos e 320 µg para mulheres com 19 anos ou mais. Para avaliar a possibilidade de efeitos adversos resultantes da ingestão elevada do nutriente, foi considerada a recomendação do Limite de Ingestão Máximo Tolerável (*Tolerable Upper Intake Level-UL*), de acordo com as faixas etárias pré-estabelecidas (800 µg para adolescentes entre 15-18 anos e 1000 µg para as mulheres com idade igual ou maior a 19 anos). Foi considerada em risco potencial a porcentagem de mulheres que excederam os valores de referência do UL para o nutriente.

Para análise das concentrações de folato eritrocitário, procedeu-se a coleta de 5 mL de sangue por punção venosa cubital. As amostras foram colhidas em Unidades dos Laboratórios NKB ou na própria Unidade de Saúde. A determinação da concentração de folato eritrocitário foi realizada por técnica de imunoensaio, utilizando a eletroquimioiluminescência em equipamento Elecsys® 2010 System da Roche Diagnostica Brasil (kit's Elecsys® RBC Folate, Roche Diagnóstica do Brasil). A escolha do referido método foi pautada na revisão da literatura que indicava a Quimioluminescência em aparelho automatizado. Para as concentrações eritrocitárias foram adotadas as categorias: < 774,9nmol/L (baixas), 774,7 – 1780,8nmol/L (normais) e >1780,8nmol/L (elevadas), levando em consideração a referência laboratorial, de acordo com a técnica e equipamento utilizados na análise das amostras e as recomendações de Economides et AL (27).

A base de dados foi compilada no Programa Epi Info, versão 6.04 (CDC/WHO, Atlanta, GE, USA), em dupla entrada, e posterior uso do modo *validate* para checar eventuais erros de digitação. Para os testes estatísticos, foi empregado o programa *Statistical Package for Social Sciences* versão 13.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Inicialmente, as variáveis contínuas foram testadas segundo a normalidade da distribuição pelo teste de Kolmogorov-Smirnov com correção

de Lilliefors. A variável consumo de folato que apresentou distribuição não normal sofreu transformação logarítmica (Ln) e foi retestada pelo mesmo teste de normalidade. As concentrações de folato eritrocitário tiveram distribuição normal e foram descritas sobre a forma de média e desvio padrão. Os dados de consumo, transformados em logaritmo neperiano, apresentaram distribuição normal, e foram descritos sob a forma de média geométrica e intervalo de confiança de 95%. Na comparação entre médias foi realizado o teste *t* de Student para dados não pareados, e no estudo de associação entre variáveis contínuas, o teste de correlação de Pearson. Foi considerado um nível de significância de 5% (p<0,05) para a rejeição da hipótese de nulidade.

O protocolo de estudo foi submetido e aprovado pelo comitê de Ética em Pesquisa do Instituto Materno-Infantil, processo n. 907, em 15 de dezembro de 2006.

RESULTADOS

Foram estudadas 360 mulheres. As características sócio-demográficas mostraram que 78,6% das mulheres tinham renda familiar mensal de até dois salários mínimos, o que demonstra uma população de baixo nível sócio-econômico e que, 63,7% haviam concluído o ensino fundamental. A média de idade das mulheres foi de 31,03±8,36 anos. Quanto à distribuição etária, houve um número significativamente menor (p= 0,000) de mulheres na faixa etária de 15-18 anos (6,9%), comparado com aquelas mulheres de idade igual ou maior a 19 anos (93,1%). A ingestão de folato da casuística como um todo foi, em média, de 627,1[IC_{95%} 600,4-655,0] µg/dia, considerada acima das necessidades estimadas para população. O consumo médio de folato entre as faixas etárias e a prevalência de indivíduos de cada estrato cuja ingestão está abaixo da recomendação (EAR) podem ser observados na Tabela 1. Um fato que chama atenção é a baixa frequência de mulheres com risco de ingestão insuficiente de folato para ambas as faixas etárias. A prevalência de mulheres que podem estar em risco de efeito adverso à saúde, devido à ingestão excessiva de folato foi elevada (48,0%), para aquelas com faixa etária entre 15-18 anos.

TABELA 1
 Proporção de ingestão de folato abaixo da EAR e acima do UL em mulheres em idade fértil atendidas nas unidades públicas de saúde do Recife, Nordeste do Brasil, 2007-2008

Faixa etária (anos)	n	Média [IC _{95%}]	p *	< EAR ^a (%)	EAR(µg)**	> UL ^b (%)	UL(µg)**
15 – 18	25	692,1 [575,3-832,6]	0,225	16,0	330	48,0	800
≥19	335	622,5 [595,3-650,9]		6,3	320	13,7	1000

* Teste *t* Student para dados não pareados ** Institute of Medicine, 2002 ^a EAR = Estimated Average Requirement (Necessidade Média Estimada) ^b UL= Tolerable Upper Intake Level (Limite Superior Tolerável de Ingestão)

Não foram encontradas diferenças entre as médias do consumo de folato e as covariáveis escolaridade, idade e renda familiar (Tabela 2). Por sua vez, mulheres com renda de até 2 salários mínimos apresentaram uma tendência de ingestão de

folato, maior comparada àquelas com renda superior a 2 salários mínimos ($p=0,06$), embora não validada do ponto de vista estatístico.

TABELA 2
Consumo e concentrações intra-eritrocitárias de folato segundo características sócio-demográficas em mulheres em idade fértil do Recife, Nordeste do Brasil, 2007-2008.

Características	n	Consumo de folato ($\mu\text{g}/\text{dia}$)		Folato eritrocitário (nmol/L)		
		média [$IC_{95\%}$]*	p^{**}	n	média $\pm dp$	p^{**}
Renda familiar						
≤ 2 SM †	282	639,8 [609,4-671,8]	0,060	282	1818,2 \pm 358,9	0,042
> 2 SM	77	578,1 [525,9-635,6]		77	1724,9 \pm 344,8	
Escolaridade						
Ensino fundamental	225	628,7 [593,3-666,1]	0,710	225	1806,7 \pm 368,6	0,538
Ensino médio e superior	128	618,3 [578,7-660,5]		128	1782,4 \pm 333,9	
Idade (anos)						
15 — 18	25	692,1 [575,3-832,6]	0,225	25	1663,9 \pm 212,6	0,004
≥ 19	335	622,5 [595,3-650,9]		335	1808,8 \pm 363,9	

* média geométrica + intervalo de confiança 95% ** Teste t *Student* para dados não pareados

† Salário mínimo = US\$ 214,42

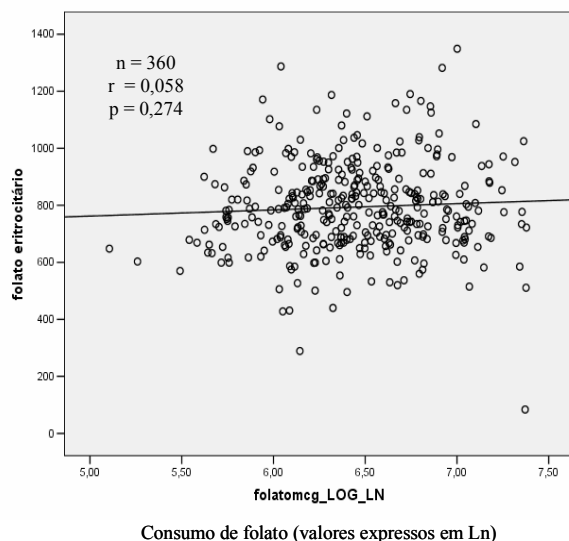
A média das concentrações de folato eritrocitário foi de $1.797,8 \pm 357,1$ nmol/L, onde 0,6% das mulheres apresentaram reservas baixas ($< 774,9$ nmol/L), 50,8% estavam dentro da faixa de normalidade ($774,9$ — $1780,8$ nmol/L), e em 48,6% as concentrações situaram-se em patamares considerados elevados ($1780,8$ nmol/L).

Maiores concentrações de folato eritrocitário ($p=0,042$) foram observadas em mulheres que apresentaram renda per capita inferior a 2 salários mínimos. Por sua vez, mulheres entre 15-18 anos apresentaram concentrações menores de folato ($p=0,004$), quando comparadas com aquelas na faixa etária igual ou maior de 19 anos.

O consumo alimentar de folato não mostrou correlação com as concentrações de folato eritrocitário (Figura 1).

FIGURA 1

Correlação entre consumo e concentrações intra-eritrocitárias de folato em mulheres em idade fértil do Recife, Nordeste do Brasil, 2007-2008



DISCUSSÃO

Poucos estudos avaliaram o consumo de folato e o efeito da sua exposição dietética sobre as concentrações eritrocitárias em mulheres em idade reprodutiva, após a regulamentação do programa de fortificação das farinhas de trigo e milho. A determinação desses parâmetros é importante para o monitoramento e avaliação da eficácia e efetividade do programa.

Na casuística observada, a frequência significativamente maior de mulheres com idade acima de 19 anos, comparada às adolescentes (15-18 anos), poderia ser atribuída à baixa procura dessas adolescentes ao atendimento nas Unidades de Saúde, considerando que elas estariam menos expostas aos riscos e agravos à saúde, bem como teriam menos suscetibilidade biológica para o adoecimento. Deve-se salientar que em virtude do delineamento não ter utilizado como pressuposto uma seleção amostral com partilha proporcional referente a distribuição etária, gerou uma

distribuição heterogênea da idade na casuística, predominando mulheres de maior idade.

O consumo de folato é um fato que merece atenção. Nas mulheres do Recife, nordeste do Brasil, a média encontrada foi $627,1$ [IC_{95%} 600,4-655,0] $\mu\text{g}/\text{dia}$, superior ao descrito por Ferreira *et al.* (404,7 $\mu\text{g}/\text{dia}$) ao avaliar o consumo de folato em mulheres em idade reprodutiva da cidade de Porto Alegre—sul do Brasil (28), e por Salas *et al.* ($422 \pm 222 \mu\text{g}/\text{dia}$), no México (18). Hertrampf *et al.* observaram uma ingestão média de $427 \pm 18 \mu\text{g}/\text{dia}$ no Chile (29), e Rebolledo *et al.*, $423,7 \pm 169 \mu\text{g}/\text{dia}$ em mulheres de 18-36 anos de idade na região metropolitana do Chile (30). Dietrich *et al.* (31), utilizando dados do *National Health and Nutrition Examination Surveys* (NHANES), conduzidos durante 1988-1994 e 1999-2000, mencionaram que o consumo de folato na população americana, pós-fortificação, era de $294 \pm 12,6 \mu\text{g}/\text{dia}$ e $302 \pm 15,8 \mu\text{g}/\text{dia}$ em mulheres de 20-39 anos e 40-59 anos, respectivamente. Após a introdução da fortificação com ácido fólico nos Estados Unidos (EUA), Yen *et al.* (32) referiram que a ingestão de folato por mulheres entre 21 e 47 anos foi de $373,5 \pm 155,6 \mu\text{g}/\text{dia}$, e de $458,5 \pm 221,5 \mu\text{g}/\text{dia}$ quando suplementadas. Resultados estes, inferiores àqueles observados na nossa investigação. É provável que essas flutuações encontradas em relação à literatura se devam aos hábitos alimentares e padrão dietético potencialmente diferentes de cada grupo populacional e contextos ecológicos dissimilares. Por sua vez, a população estudada apresentou um grande consumo de produtos à base de farinhas fortificadas com ácido fólico a exemplo dos pães, macarrão, cereais matinais, bolos e o cuscuz (prato à base de farinha de milho e leite). Isso poderia ser explicado pelo fato dos alimentos supracitados serem de custo mais acessível para população de baixa renda e, conforme podemos observar 78,6% das mulheres estudadas tinham renda familiar mensal de até dois salários mínimos.

A escassez de dados e as variações na metodologia e pontos de cortes encontrados na literatura dificultaram a comparação de dados referentes à frequência de mulheres cuja ingestão de folato se aproxima ou afasta-se dos valores propostos pelas DRI's.

A elevada proporção de mulheres (15-18 anos) que excedeu a UL para o consumo de folato é um fato que merece atenção. O excesso de ingestão desse nutriente pode mascarar a deficiência de vitamina B₁₂, propiciando o desenvolvimento de danos neurológicos progressivos e irreparáveis através da provável desmielinização neuronal (33). No Canadá, muitos profissionais de saúde solicitam medidas de controle no incentivo à suplementação de ácido fólico em pacientes com altas concentrações de folato durante o período periconcepcional (34).

Em nossa amostra verificamos que a média das concentrações do folato eritrocitário foi superior ($1.797,8 \pm$

$357,1 \text{ nmol/L}$) às reportadas em outros estudos. Dietrich *et al.* (31) identificaram uma média de ($556,0 \pm 18,5 \text{ nmol/L}$) para mulheres americanas entre 20-39 anos, e de $629,2 \pm 21,5 \text{ nmol/L}$, para mulheres entre 40-59 anos, após a fortificação. Utilizando dados do NHANES 1999-2000 e o NHANES 2001-2002, foram observadas concentrações de folato eritrocitário da ordem de $634,2 \pm 10,6 \text{ nmol/L}$ e $628,3 \pm 10,4 \text{ nmol/L}$ em americanas, respectivamente (35). Hertrampf *et al.* (29) constatarem valores médios de ($707,1 \pm 179,0 \text{ nmol/L}$) em 605 mulheres em idade reprodutiva no Chile. Resultados mais próximos ao da nossa casuística foram relatados por Clifford *et al.* (36), na Califórnia (EUA), quando avaliaram mulheres acima de 18 anos, não grávidas, e não suplementadas com ácido fólico ($1300,3 \pm 47,1 \text{ nmol/L}$).

A média mais elevada das concentrações de folato eritrocitário observada na nossa investigação poderia ser atribuída ao enriquecimento das farinhas com concentrações de ácido fólico muito acima do estabelecido como valor mínimo pela legislação brasileira ($150 \mu\text{g}/100\text{g}$). Boen *et al.* (37) analisaram os níveis de ácido fólico em algumas farinhas enriquecidas no Brasil e observaram que a concentração média de folato foi de $325 \pm 22 \mu\text{g}/100\text{g}$ para as farinhas de milho e $228 \mu\text{g} \pm 8 \mu\text{g}/100\text{g}$ para as farinhas de trigo.

A tendência de um maior consumo de folato observado nas mulheres que recebiam até dois salários mínimos pode ser apoiada pelo *status* do folato intra-eritrocitário, que mostrou que quanto mais baixa a classe econômica, maior a concentração de folato eritrocitário. A influência da condição socioeconômica nos hábitos alimentares do grupo, associado às limitações dependentes do viés de memória de hábitos alimentares passados, poderiam explicar a tendência de consumo maior, embora não significativa. Garcia *et al.* (38) mencionaram que a condição econômica pode influenciar o perfil alimentar do grupo, podendo superestimar o consumo, para minimizar a dimensão da pobreza, ou subestimar segundo a expectativa do entrevistado com relação aos objetivos da pesquisa. O aumento das concentrações eritrocitárias de folato pode ser resultado do aporte nutricional da vitamina proveniente de alimentos enriquecidos. No extremo sul do Brasil, foi verificado que classes econômicas mais baixas consomem alimentos fontes de ácido fólico contido nas farinhas em quantidades satisfatórias (28). Estas podem ser consideradas fontes importantes na dieta da população menos favorecida, pois apresentam densidades energéticas elevadas e custo relativamente acessível quando comparadas a outras fontes alimentares. Darmon *et al.* (39), em um estudo realizado na França, constatarem a influência da restrição econômica sobre a seleção de alimentos. Os custos para uma população de baixa renda podem influenciar o consumo de alimentos de maior densidade energética, a exemplo das massas, pão, biscoito, dentre outros.

De acordo com a Pesquisa de Orçamento Familiar realizada

no Brasil pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE (2002-2003), os produtos de panificação representam 13,2% da distribuição percentual monetária, sendo o terceiro grupo de alimentos que gera maior dispêndio na região metropolitana do Recife (40). O alto consumo de alimentos de baixo valor nutricional, observado na nossa casuística, mostram-se semelhantes aos dados observados na literatura especializada. Esses achados evidenciam que houve um aumento nas três últimas décadas de cerca de 400% no consumo de produtos industrializados, como biscoitos, bolachas, macarrão, bolachas e farinhas de milho e farinha de trigo (pães e bolos)(41). Santos & Pereira (2007) apontam para questionamentos sobre a diversidade dos hábitos alimentares regionais que embasados nos dados da Pesquisa de Orçamento Familiar (POF 2002-2003) permitem avaliar, em parte, a questão sobre os níveis de fortificação recomendados. Para os produtos farináceos encontrados com frequência apreciável na POF (fubá, creme e flocos de milho, farinha de trigo, massas, panificados e biscoitos), a disponibilidade média diária domiciliar foi de 106,1g, permitindo um aporte adicional de ácido fólico de 0,16mg/dia, de acordo com o que prescreve a regulamentação (42). No entanto, esses dados podem estar subestimados tendo em vista que cerca de 1/4 das despesas com alimentos ocorrem com refeições realizadas fora do domicílio(41).

A diferença encontrada nas médias de folato eritrocitário em relação à distribuição etária poderia ser atribuída à heterogeneidade no número de mulheres alocadas nas duas classes. Apenas 25 mulheres tinham idade entre 15-18 anos e 335 compreendiam mulheres com 19 anos ou mais. Uma distribuição mais homogênea entre as categorias poderia não refletir tal diferença. Numa primeira leitura a diferença observada nas faixas etárias parece ser um dado com pouca plausibilidade biológica, considerando que as mulheres que tinham menor consumo, apresentaram concentrações eritrocitárias maiores. No entanto, algumas considerações poderiam ser levantadas, como forma de explicar esse achado incomum. A primeira seria o fato de que como o folato eritrocitário é um indicador da reserva do status orgânico da vitamina suas concentrações refletiriam um consumo que se estenderia por um longo período anterior a avaliação do seu status. Outra possibilidade seria a de que mulheres na faixa etária de maior idade teriam uma frequência de contatos com os serviços de saúde de forma mais regular e, conseqüentemente, teriam mais oportunidades de suplementação farmacológica por ocasião desses atendimentos. Outra possível justificativa seria a de que embora a ingestão de alimentos-fonte de ácido fólico seja menor no grupo etário de maior idade, as concentrações eritrocitárias poderiam ser maiores tendo em vista que esse grupo etário teria uma redução fisiológica da taxa metabólica global e, conseqüentemente menor utilização biológica dessa vitamina. No entanto, a

interpretação desses achados merece a devida cautela considerando que os dados da literatura não são consensuais. Nesse sentido, Ferreira *et al.* (28) observaram uma correlação significativa entre a idade e consumo de alimentos-fonte de ácido fólico.

Por outro lado, a possível inserção dessas mulheres no mercado de trabalho, deslocando sua alimentação do ambiente doméstico pode ser um outro fator plausível para explicar o aumento nas concentrações de folato eritrocitários entre mulheres com 19 anos ou mais. Devido à praticidade, essas mulheres podem optar por alimentos semiprontos, pães, massas ou salgadinhos, com base em farinhas fortificadas. Nessas preparações, o ácido fólico se apresenta na forma sintética, portanto mais biodisponível quando comparado ao folato natural, podendo refletir níveis maiores de folato eritrocitário. Segundo Schlindwein *et al.* (43), a participação da mulher no mercado de trabalho pode afetar positivamente o consumo de alimentos mais práticos, o que demanda menos tempo para seu preparo. Garcia *et al.* (38) mencionaram que fatores sociais como escassez de tempo para o preparo de alimentos, aumento da distância do local de trabalho, número de pessoas que moram sozinhas, dentre outros, podem contribuir na alteração dos padrões de consumo alimentar.

A ausência de correlação entre o consumo de folato e o *status* orgânico dessa vitamina merece pelo menos três explicações. A primeira seria de ordem metodológica, considerando que podem existir diferenças entre a avaliação dietética e o real consumo do nutriente. A estimativa de consumo alimentar pelo QFA, embora representativo da dieta habitual, apresenta limitações. A acurácia com que os indivíduos recordam a ingestão de alimentos no passado pode levantar questionamentos, devido aos prováveis erros sistemáticos de memória, percepção das porções e interpretação das perguntas (44). Uma segunda explicação seria a ausência de tabelas nacionais de composição química de alimentos que levem em consideração os alimentos fortificados, podendo contribuir para possíveis diferenças encontradas quando se correlaciona à avaliação dietética com o parâmetro bioquímico. A tabela de composição de alimentos usada como base de dados no nosso estudo pode apresentar variações em relação ao teor do nutriente no próprio alimento, devido a fatores como forma de plantio, estocagem e processamento. Além do mais, leva em consideração um enriquecimento da ordem de 0,14 mg de folato/100g de farinha, e no Brasil, a fortificação de farinhas com folato corresponde a 0,15 mg/100g do produto. Em terceiro lugar, embora as concentrações de folato eritrocitário reflitam a ingestão da vitamina, os processos de digestão, absorção e metabolismo, além da presença de fatores como consumo de bebidas alcoólicas e fumo, podem ter implicações na relação quantidade ingerida do nutriente e mensuração bioquímica, causando variações nos níveis teciduais (44,45).

Concluindo, o consumo alimentar de folato e concentrações eritrocitárias em mulheres em idade reprodutiva atendidas nas Unidades Públicas de Saúde do Recife, Nordeste do Brasil, apresentaram-se acima das recomendações internacionais. Soma-se ao fato de uma elevada proporção de mulheres com ingestão superior a UL. É importante monitorar o enriquecimento das farinhas de acordo com as concentrações estabelecidas pelo programa de fortificação, e ter cautela no incentivo à suplementação de ácido fólico no período periconcepcional.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) – Brasil, pelo aporte financeiro e concessão de bolsa de estudo, ao Ministério de Ciência e Tecnologia – Brasil, pelo suporte financeiro, à Secretaria de Saúde da cidade do Recife, pelo apoio logístico e à nutricionista Carla Enes, pela importante contribuição no treinamento do programa DietSys.

REFERÊNCIAS

- Khor GL, Duraisamy G, Loh SP, Green TJ, Skeaff CM. Dietary and blood folate status of Malaysian women of childbearing age. *Asia Pac J Clin Nutr.* 2006; 15(3): 341-349.
- Almeida LC, Tomita LY, D'Almeida V, Cardoso MA. Preditores sócio-demográficos, de estilo de vida e gineco-obstétricos das concentrações séricas ou plasmáticas de homocisteína, ácido fólico e vitaminas B12 e B6 em mulheres de baixa renda de São Paulo, Brasil. *Cad S Públ.* 2008; 24(3): 587-596.
- Scholl TO, Johnson WG. Folic acid: influence on the outcome of pregnancy. *Am J Clin Nutr.* 2000; 71 (5 Suppl): S129-303.
- García-Casal MN, Leets I, Bracho C, Hidalgo M, Bastidas G, Gomez A, Peña A. Prevalence of anemia and deficiencies of iron, folic acid and vitamin B12 in an Indigenous community from the Venezuelan Amazon with a high incidence of malaria. *Arch Latinoam Nutr.* 2008; 58(1):12-18.
- World Health Organization. World atlas of birth defects (2003). Acessado em 22/09/2010. <http://www.who.int/genomics/publications/en/>.
- Rader Jr. Folic acid fortification, folate status and plasma homocysteine. *J Nutr* 2002;132 (8 Suppl):2466S-70S
- Agencia Nacional de Vigilância Sanitária. RDC.344, de 13 de dezembro de 2002. aprova o regulamento técnico para fortificação das farinhas de trigo e de milho com ferro e ácido fólico. http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/2002/344_02rdc.htm . acessado em 22/09/2010
- Lima HT, Saunders C, Ramalho A. Ingestão dietética de folato em gestantes do município do Rio de Janeiro. *Rev Bras S Mater Infant.* 2002; 2(3):303-311.
- Trugo N M E. Micronutrient regulation in pregnant and lactating women from Rio de Janeiro. *Arch Latinoam Nutr.* 1997; (47 Suppl): S302-334.
- Azevedo DV, Sampaio HAC. Consumo alimentar de gestantes adolescentes atendidas em serviços de assistência pré-natal. *Rev Nutr.* 2003; 16(3): 273-280.
- Fonseca VM, Sichieri R, Basilio L, Ribeiro LVC. Consumo de folato em gestantes de um hospital público do Rio de Janeiro. *Rev Bras Epidemiol.* 2003; 6(4):319-327.
- Barros DC, Pereira RA, Gama SGN, Leal MC. O consumo alimentar de gestantes adolescentes no município do Rio de Janeiro. *Cad S Públ.* 2004; 1(20 Suppl): S121-129.
- Castro TG, Bertolino CN, Gimeno SGA, Cardoso MA. Mudanças no consumo alimentar de nipo-brasileiros residentes em Bauru, São Paulo, Brasil, 1993-2000. *Cad S Públ.* 2006; 22(11):2433-2440.
- Martini LM. Marcadores bioquímicos da ingestão alimentar. In: Fisberg, RM, Slater B, Marchioni DML, Martini, LA, editores. *Inquéritos alimentares – métodos e bases científicas*, 1 ed. São Paulo: Manole; 2005. p. 132-157.
- Mafra D, Cozzolino SMF. Ácido fólico. In: Cozzolino SMF, editor. *Biodisponibilidade de Nutrientes*, 2. ed. São Paulo: Manole; 2007. p. 381-394.
- Lim HS, Kim HA. Dietary folate intake, blood folate status, and urinary folate catabolite excretion in Korean women of childbearing age. *J Nutr Sci Vitaminol.* 2008; 54:291-297.
- Henderson RH, Sunderesan T. Clustersampling to assess immunization coverage: a review of experience with a simplified sampling method. *WHO Bull OMS.* 1982; 60:253-260.
- Salas ZJ, Faz-Cepeda F, Castañón LNB, Martínez PCC, Obregón MCM, Torres MSC, García MLL. Consumo de folatos de mujeres em edad fértil de Apocada, N.L. México. *Rev Sal Públ Nutr.* [serial on the internet] 2003 oct-dic [acesso 2007 Jun 8]; 4(4). Disponível em: <http://www.respyn.uanl.mx/ii/1/ensayos/acidofolico.html>
- Medeiros JP, Pfrimer K, Tremeschin MH, Molina MC, Chiarello P. *Nutrição e Metabolismo – Consumo alimentar: Visualizando porções*. 1ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2007.
- Zaboto CB, Viana RPT, Gil MF. Registro fotográfico para inquéritos dietéticos: utensílios e porções. Campinas: NEPA/UNICAMP; 1996.
- Pinheiro ABV, Benzecry EH, Lacerda EMA, Gomes MCS, Costa VM. Tabela para avaliação de consume alimentar e medidas caseiras. 5 ed. Rio de Janeiro: Atheneu; 2004.
- Fisberg RM, Villar BS. Manual de receitas e medidas caseiras para cálculo de inquéritos alimentares. 1 ed. São Paulo: Signus; 2002.
- Martins MHS. Valor Nutritivo de Alimentos Definidos por Pesos Médios, Frações e Medidas Caseiras. Recife: UFPE; 1982.
- Gondim CM. Consumo alimentar de uma população de indígenas Potiguara no estado da Paraíba-Brasil. Dissertação] Recife(PE): Universidade Federal de Pernambuco; 2007.
- Tabela de Composição Química dos Alimentos. United States Department of Agriculture (USDA) Nutrient Database for Standard Reference - SR14, 2001.
- Economides DL, Ferguson J, Mackenzie IZ, Darley J, Ware II, Holmes SM. Folate and vitamin B12 concentrations in maternal and fetal blood and amniotic fluid in second trimester pregnancies complicated by neural tube defects. *Br J Obstet. Gynecol* 1992;99:23-5.
- Institute of Medicine. National Research Council. Dietary Reference Intakes for thiamin, riboflavin, niacin, vitamin B6, folate,

- vitamin B12, pantothenic acid, biotin, and choline. Washington (DC): National Academy Press; 2002.
28. Ferreira AF, Giugliani R. Consumption of folic acid-fortified flour and folate-rich foods among women at reproductive age in South Brazil. *Community Genet.* 2008;11(3):179-184.
 29. Hertrampf E, Cortés F, Erickson JD, Cayazzo M, Freire W, Bailey LB, Howson C, Kauwell GPA, Pfeiffer. Consumption of folic acid-fortified bread improves folate status in women of reproductive age in Chile. *J Nutr.* 2003; 133:3166-3169.
 30. Rebolledo AA, Vasquez MC, Canto BP, Ruz MO. Evaluación de la calidad y suficiencia de la alimentación de un grupo de mujeres de la región metropolitana de Chile. *Rev Chil Nutr.* 2005; 32(2):118-125.
 31. Dietrich M, Brown C J P, Block G. The effect of folate fortification of cereal-grain products on blood folate status, dietary folate intake, and dietary folate sources among adult non-supplement users in the United States. *J Am Coll of Nutr.* 2005; 24(4): 266-274.
 32. Yen J, Zoumas-Morse C, Pakiz B, Rock C L, Thorpe M. Folate intake assessment: Validation of a new approach. *J Am Diet Assoc.* 2003; 103(8): 991-1000.
 33. Paniz C, Grotto D, Schmitt GC, Valentini J, Schott KL, Pomblum VJ, Solange CG. Fisiopatologia da deficiência de vitamina B12 e seu diagnóstico laboratorial. *J Bras Patol Med Lab.* 2005; 41(5): 323-334.
 34. Houghton L A, Sherwood K L, O'Connor D L. How well do blood folate concentrations predict dietary folate intake in a sample of Canadian lactating women exposed to high levels of folate? An observational study. *BMC Preg and Child.* [serial on the internet]. 2007 oct [acesso Dec 12]; 7(25). Disponível em: <http://www.biomedcentral.com/1471-2393/7/25>
 35. Ganji V, Kafai, MR Trends in serum folate, RBC folate, and circulating total homocysteine concentrations in the United States: Analysis of data from National Health and Nutrition Examination Surveys, 1988-1994, 1999-2000, and 2001-2002. *J Nutr.* 2006; 136:153-158.
 36. Clifford AJ, Noceti EM, Block-Joy A, Block T, Block G. Erythrocyte folate and its response to folic acid supplementation is assay dependent in women. *J. Nutr.* 2005; 135: 137-143.
 37. Boen TR, Soeiro BT, Pereira-Filho ER, Lima-Pallone JA. Folic Acid and Iron Evaluation in Brazilian Enriched Corn and Wheat Flours. *J Braz Che. Soc* 2008; 19 (1):53-59.
 38. Garcia R W D. Representações sobre consumo alimentar e suas implicações em inquéritos alimentares: estudo qualitativo em sujeitos submetidos à prescrição dietética. *Rev Nutr.* 2004; 17(1):15-28.
 39. Darmon N, Ferguson E, Briendi A. Do economic constraints encourage the selection of energy dense diets? *Appetite.* 2003; 41:315-322.
 40. Pesquisa de Orçamento Familiar 2002-2003. Primeiros resultados: Brasil e regiões. Rio de Janeiro: IBGE; [serial on the internet]. 2004.[acesso Dec 10]. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/condicoedevida/pof/2002analise/pof200>.
 41. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF) 2002-2003: Análise da Disponibilidade Domiciliar de Alimentos e do Estado Nutricional no Brasil. Rio de Janeiro, 2004
 42. Santos LMP, Pereira MZ. Efeito da fortificação com ácido fólico na redução dos defeitos do tubo neural. *Cad. Saúde Pública,* Rio de Janeiro, 23(1):17-24, jan.2007
 43. Schlindwein MM, Kassouf L. Mudanças no padrão de consumo de alimentos tempo-intensivos e de alimentos poupadores de tempo, por região do Brasil. In: Silveira F G, Servo LM, Menezes T, Piola SF, editores. *Gastro e consumo das famílias brasileiras contemporâneas.* Brasília: IPEA; 2007.
 44. Villar BS. Desenvolvimento e validação de um questionário semi-quantitativo de frequência alimentar para adolescentes [tese]. São Paulo (SP): Departamento de nutrição da faculdade de saúde pública da Universidade Federal de São Paulo; 2001.
 45. Ferrini MT, Borges VC, Marco D, Aguiar JE, Bottoni A, Waitzberg DL. Vitaminas. In: Waitzberg DL, editor. *Nutrição oral, enteral e parenteral na prática clínica.* 3 ed. São Paulo: Athneu; 2000. p. 95-115.

Recibido: 23-02-2010

Aceptado: 21-10-2010

Influência da idade gestacional e da paridade sobre a concentração de retinol no colostro humano

Roberto Dimenstein, Juliana Cristina de Oliveira Dantas, Ana Caroline Perez Medeiros, Lalyana Rafaella de Freitas Cunha

Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal/RN, Brasil

RESUMO. A vitamina A é particularmente importante durante os períodos críticos de crescimento, proliferação e desenvolvimento dos tecidos como gestação, período neonatal e infância. Este trabalho tem o objetivo de avaliar a influência das variáveis maternas, como idade gestacional e paridade, sobre os níveis de retinol no colostro e verificar se a concentração de vitamina A no colostro dessas mães fornece a quantidade recomendada deste micronutriente para os recém-nascidos. Foram recrutadas 84 parturientes saudáveis atendidas em uma maternidade pública brasileira. As concentrações de retinol no colostro foram analisadas por cromatografia líquida de alta eficiência. O retinol no colostro de mães a termo (n=49) e pré-termo (n=35) apresentaram valores de $111,3 \pm 12,4 \mu\text{g/dL}$ e $79,2 \pm 10,6 \mu\text{g/dL}$ ($p < 0,0001$), respectivamente e a concentração de retinol no colostro de primíparas (n= 40) ($82,5 \pm 8,8 \mu\text{g/dL}$) e de múltiparas (n= 44) ($116,9 \pm 10,3 \mu\text{g/dL}$) também foi estatisticamente diferente ($p < 0,0001$). Os níveis de retinol no colostro de mães a termo, bem como os de mães que tiveram um ou mais de um filho neste estudo atendem as necessidades da criança ($400 \mu\text{g}$ de retinol/dia). Entretanto, os níveis de retinol no colostro de mães pré-termo não condizem com as recomendações da DRI para prematuros, que é de $420 \mu\text{g}$ de retinol/dia. Esses resultados demonstram a necessidade de suplementar com vitamina A as mães pré-termo a fim de garantir um fornecimento adequado dessa vitamina ao recém-nascido.

Palavras chave: Prematuridade, paridade, colostro, vitamina A.

SUMMARY. Influence of gestational age and parity on the concentration of retinol in human colostrums. Vitamin A is particularly important during the critical periods of growth, proliferation and development of tissues such as pregnancy, neonatal period and childhood. This study aims to evaluate the influence of maternal variables such as gestational age and parity, on the levels of retinol in colostrum and verify that the concentration of vitamin A in the colostrum of those mothers provides the recommended amount of this micronutrient for newborns. We recruited 84 healthy pregnant women attended at a Brazilian public hospital. Retinol concentrations in colostrum were analyzed by high performance liquid chromatography. The retinol in colostrum from mothers at term (n = 49) and preterm (n = 35) showed values of $111.3 \pm 12.4 \mu\text{g/dL}$ and $79.2 \pm 10.6 \mu\text{g/dL}$ ($p < 0.0001$), respectively, and retinol concentration in colostrum from primiparous (n = 40) ($82.5 \pm 8.8 \mu\text{g/dL}$) and multiparous (n = 44) ($116.9 \pm 10.3 \mu\text{g/dL}$) was also statistically different ($p < 0.0001$). Retinol levels in colostrum at term and those whose mothers had one or more than one child in this study meet the needs of the child ($400 \mu\text{g}$ retinol/day). However, levels of retinol in colostrum of preterm infants are not consistent with the recommendations of the DRI for premature infants, which is $420 \mu\text{g}$ retinol/day. These results demonstrate the need to supplement with vitamin A preterm mothers to ensure an adequate supply of this vitamin to the newborn.

Key words: Prematurity, parity, colostrum, vitamin A.

INTRODUÇÃO

O leite humano constitui a melhor fonte de nutrientes para o recém-nascido, por ser nutricionalmente o alimento mais equilibrado e adequado para este momento crítico do seu desenvolvimento e por possibilitar a harmoniosa relação mãe-filho. As vantagens do aleitamento natural são de ordem psicológica, bioquímica, imunológica e econômica, vantagens estas que se acentuam em populações de baixo nível sócio econômico (1).

A concentração de retinol no leite materno varia durante o período de lactação de acordo com o estado de maturação do leite. O colostro é o primeiro produto da secreção láctea que permanece até o 4º dia pós-parto. Esta secreção é um líquido espesso de coloração amarelada, devido ao elevado conteúdo de carotenóides (pró-vitamina A). A vitamina A também se encontra elevada no colostro, decrescendo e atingindo certa

estabilidade na medida em que este amadurece (2). Tal micronutriente é particularmente importante durante os períodos críticos de crescimento, proliferação e desenvolvimento dos tecidos como na gestação, período neonatal e infância (3).

O feto começa a acumular vitamina A durante o último trimestre de gestação e, após o nascimento necessita de vários meses de ingestão adequada para construir suas reservas (4). As reservas fetais de vitamina A estão limitadas durante a gestação, pois a placenta atua, possivelmente, regulando a passagem dessa vitamina da mãe para o feto, provavelmente para evitar o efeito teratogênico da vitamina A. Este mecanismo contribui para a baixa reserva hepática deste micronutriente no recém-nascido. Além disso, há o relato de que os recém-nascidos produzam menos RBP (Retinol Binding Protein), proteína que mobiliza o retinol no fígado, devido à imaturidade hepática destas crianças ao nascerem (5,6).

Os níveis médios de vitamina A no colostro de mulheres de países em desenvolvimento está entre 60-100 $\mu\text{g/dL}$ (7). Em condições de amamentação plena, a transferência de vitamina A pelo leite materno é 60 vezes maior do que a transferência placentária durante os 9 meses de gestação (6), sendo a concentração de vitamina A no leite materno suficiente para suprir as necessidades diárias do recém-nascido (3,8).

Por fornecer informações relacionadas tanto ao estado nutricional materno quanto ao infantil, a concentração de vitamina A no leite humano é um indicador importante e tem sido utilizado para investigações sobre deficiência de vitamina A (DVA) no grupo materno-infantil (7). Segundo a organização mundial de saúde (3) a DVA é considerada um problema de saúde pública nos países em desenvolvimento. No Brasil, a área mais afetada é a região Nordeste, atingindo principalmente crianças de zero a seis anos de idade (2).

Estudos investigando influência de características maternas sobre o retinol do leite materno têm se mostrado conflitantes. Vitolo (9) não encontrou influência das variáveis, dieta, idade e condição sócio-econômica, enquanto de Melo (10) sugere que alguns fatores nutricionais, obstétricos e sócio-econômicos podem ter efeito sobre a concentração de retinol no leite materno.

Alguns fatores podem influenciar a concentração de vitamina A no leite materno, como o estágio de lactação (11), o decorrer da mamada (12), a idade gestacional (13), nutrição materna, a idade da mãe, paridade e outros aspectos individuais e seletivos da lactante (14,15).

Por fazer parte do grupo de risco para DVA, o recém-nascido é dependente do suporte nutricional fornecido pela amamentação. Um consumo adequado em vitamina A pela criança é muito importante devido às diversas funções desempenhadas pela vitamina A em todas as células do corpo, como visão, comunicação intracelular, embriogênese, crescimento e diferenciação celular, além de atuar também como imunoreguladora (16,17). O presente trabalho tem como objetivo avaliar se variáveis maternas como idade gestacional e paridade influenciam os níveis de retinol no colostro e verificar se a quantidade de vitamina A fornecida por estas mães corresponde à quantidade requerida pelos recém-nascidos, garantindo o desenvolvimento normal destas crianças.

MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo foi do tipo transversal e a amostragem foi obtida por conveniência, composta por parturientes voluntárias, atendidas na Maternidade Escola Januário Cicco (Natal-RN). Foram coletadas amostras de leite colostro em jejum de 84 mulheres que participaram do estudo. O estudo obteve aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Onofre Lopes (CEP - HUOL) da Universidade

Federal do Rio Grande do Norte (protocolo n° 284/09).

O cálculo do tamanho da amostra foi realizado no módulo Statcalc do programa Epi-Info 3.5.1. Considerando uma média de 400 partos no período, para um nível de confiança de 95%, estimou-se um tamanho de amostra representativo da população de no mínimo 60 sujeitos.

Estas mulheres foram distribuídas, de acordo com a idade gestacional em dois grupos: termo ($n = 49$) e pré-termo ($n = 35$) e pela paridade: primíparas ($n = 40$) e múltíparas ($n = 44$). Foram incluídas no estudo apenas mulheres sem patologias (diabetes, neoplasias, doenças do trato gastrointestinal e hepática, cardiopatias, infecciosas, sífilis, HIV positivo), que tiveram partos a termo e pré-termo e conceito único sem má-formação.

As amostras de colostro foram obtidas por expressão manual de uma mama, até 48 horas após o parto, no turno matutino e no início da mamada, em um único momento até atingir um volume de 2,0 mL. O leite foi coletado em tubo de polipropileno envolto por papel alumínio, para impedir a degradação da vitamina A pela ação da luz, e conservada 20°C até o momento das análises.

Para análise da vitamina A, as amostras de colostro extraída segundo adaptação do método de Giuliano (conforme descrito a seguir. Foram acrescentados nas amostras 1 mL hidróxido de potássio 50% v/v (Vetec, Rio de Janeiro) e 500 μL de álcool etílico 95% (Vetec, Rio de Janeiro) em 500 μL das amostras de leite para a etapa hidrólise alcalina. Em seguida, o retinol das amostras extraído com hexano (Merck, São Paulo, Brasil). Após a adição de 2 mL do hexano, as amostras foram agitadas durante 1 minuto e centrifugadas a (500x g) por 10 minutos e a camada hexânica removida para outro tubo. Este processo ocorreu por três vezes e do total extraído, foram utilizadas alíquotas de 3 mL da fase hexânica.

As alíquotas foram evaporadas sob atmosfera de nitrogênio em banho-maria a 37°C. Os extratos foram redissolvidos em 500 μL de etanol (Merck, São Paulo, Brasil) em grau de pureza para cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e aplicados 20 μL no cromatógrafo de marca Shimadzu - Japão, com bomba LC-20AT Shimadzu, acoplado a um Detector SPD-20A Shimadzu UV-VIS e Coluna Shim-pack CLC-ODS (M) 4,6 mm x 15 cm. Os dados foram processados pelo programa LC solution (Shimadzu Corporation). A fase móvel utilizada foi metanol 100% em sistema isocrático com fluxo de 1,0 mL/min. e comprimento de onda de 325nm.

Análise estatística

Os valores de retinol foram expressos em média e desvio padrão. Para testar as diferenças entre as médias dos dados numéricos paramétricos foi utilizado o teste t de Student. As diferenças foram consideradas significativas quando $p < 0,05$.

RESULTADOS

O grupo das parturientes era composto predominantemente por adultas (85 %), múltiparas (52%) e por mães cujos filhos nasceram a termo (70,3%). As características gerais das mães recrutadas podem ser vistas na Tabela 1.

TABELA 1

Características gerais das mães recrutadas para esse estudo na Maternidade Escola Januário Cicco, Natal-RN

Características maternas	Grupo total (n = 84)
Idade (anos)	23,3 ± 7,6 ¹
Paridade (número de filhos)	2,0 ± 1,6 ¹
Idade gestacional	
Pré-Termo [n (%)]	35 (41,7)
Termo [n (%)]	49 (58,3)

média ± desvio padrão

O retinol analisado no colostro de mães no grupo total (84 rperas) apresentou uma média de 97,9 ± 19,7 µg/dL. O r médio de retinol em mulheres cujos filhos nasceram antes 37 semanas (79,2 ± 10,6 µg/dL) foi estatisticamente rrente (p< 0,0001) do valor encontrado no leite de mães os filhos nasceram a termo (111,3 ± 12,4 µg/dL) (Figura Ao analisar a concentração de retinol no colostro de mães níparas (82,5 ± 8,8 µg/dL) e de múltiparas (116,9 ± 10,3 dL) foi observada uma diferença estatisticamente ificante (p< 0,0001) (Figura 2).

FIGURA 1

Valor médio de retinol no colostro de mulheres segundo a Idade gestacional. Mulheres cujos filhos nasceram antes de 37 semanas (pré-termo) apresentaram valores de retinol no colostro menores quando comparadas com o colostro de mulheres cujos filhos nasceram a termo (p< 0,0001).

Teste de t para amostras independentes

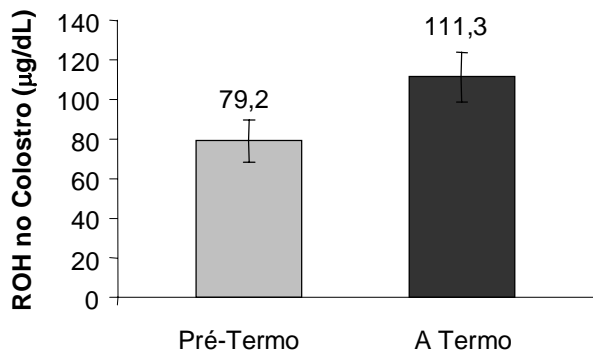
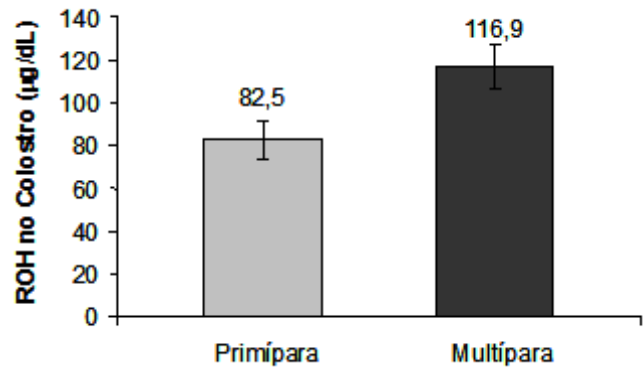


FIGURA 2

Valor médio de retinol no colostro de mulheres segundo a Paridade. Mulheres que tiveram mais de um filho (múltiparas) tiveram maiores concentrações de retinol no colostro quando comparadas às primíparas (p< 0,0001). Teste de T para amostras independente



A concentração de retinol no leite de mulheres a termo e pré-termo; de mulheres múltiparas e primíparas, forneceram, respectivamente, 565,0, 358,9, 584,5 e 412,5 µg de retinol/dia (Tabela 2).

TABELA 2

Estimativa de retinol (ROH µg/dia) oferecida pelo colostro materno

Variáveis	ROH (µg/dia)
Mães Pré-termo	358,9
Mães A Termo	565,0
Mães Primíparas	412,5
Mães Múltiparas	584,5

DISCUSSÃO

As maioria das características das mães que foram arroladas para esse estudo foram semelhantes às encontradas por Campos em Recife (19) e por Dimenstein *et al.* (20) na mesma localidade brasileira.

As concentrações de retinol no colostro das mães do grupo total (n= 84) foram semelhantes ao encontrado por Ribeiro e Dimenstein (13) em um estudo feito em mulheres da mesma região do Brasil (93,1 µg/dL), inferiores aos níveis encontrados por Schweigert *et al.* (21) em mulheres alemãs (153,3 µg/dL) e por Chappell *et al.* (22) em mulheres canadenses (145 µg/dL) e superiores aos encontrados por Ahmed *et al.* (23) em Bangladesh (22,6 µg/dL).

Foi encontrada diferença estatisticamente significativa entre os níveis de retinol no colostro de mães a termo e pré-termo. Tal situação também foi observada por Melo (13) em mulheres da mesma região. O leite de mães de recém-nascidos pré-termo tem menor concentração de vitamina A quando comparadas às mães a termo e essa situação decorre de uma tendência à diminuição dos níveis de retinol sérico das gestantes no último trimestre da gestação. Além disso, é preciso levar em consideração a existência de uma barreira seletiva placentária, que impede a passagem dessa vitamina para o feto, aliado ao início precoce da lactação das mães com filhos prematuros (4).

Ao dividirmos as mães quanto à paridade, foi visto que as multíparas apresentaram 30% a mais de retinol no colostro do que as primíparas. Meneses e Trugo (15) sugerem que a paridade pode influenciar os níveis de retinol no leite quando a lactação prévia proporciona uma alta mobilização das reservas de retinol (influenciada também pela adiposidade materna em multíparas) e alta transferência à glândula mamária.

O Instituto de Medicina (IOM) (24) recomenda para crianças a termo de zero a seis meses de idade um consumo diário de vitamina A (ou retinol equivalente - RE) de 400 µg e para crianças prematuras nestas mesmas condições, de 420 µg/dia. Segundo Ross e Harvey (25) o consumo médio diário de leite nas primeiras semanas de vida é 500 mL e a quantidade de vitamina A presente no leite materno é suficiente para atender as necessidades das crianças (26). Foi observado que a concentração de retinol no leite de mulheres a termo e de mulheres multíparas e primíparas deste estudo atendem as necessidades do recém-nascido, entretanto, os níveis de retinol no colostro de mães pré-termo não condizem com as recomendações da DRI para prematuros, pois só fornece 358,9 µg de retinol/ dia, ou seja, aproximadamente 89% desta necessidade.

Considerando que as necessidades nutricionais de vitamina A de uma criança prematura são maiores do que a criança nascida a termo, devido ao intenso catabolismo nas primeiras semanas após o nascimento e também, por conta do baixo estoque de retinol no fígado ao nascer e das baixas concentrações de retinol plasmático (13), sugere-se a suplementação materna com vitamina A.

A suplementação materna de vitamina A no pós-parto imediato vem sendo uma intervenção bastante utilizada em áreas de risco para deficiência de vitamina A, sendo uma medida que resulta no aumento de retinol no leite materno (27). Tal medida pode beneficiar a criança nascida pré-termo, bem como a criança a termo de regiões de risco.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq, a CAPES e à Universidade Federal do Rio Grande do Norte, pelo apoio financeiro e incentivo ao desenvolvimento da pesquisa; e à Maternidade Escola Januário Cicco, pela permissão para a realização do presente estudo.

REFERENCIAS

1. American Academy of Pediatrics Section on Breastfeeding. Breastfeeding and the use of human milk. *Pediatrics*. 2005; 115:496-506.
2. Euclides MP. Nutrição do lactente: base científica para uma alimentação adequada. 2.ed., Viçosa, MG. 2000. 488p.
3. World Health Organization (WHO). Global prevalence of vitamina A deficiency in populations at risk 1995-2005: WHO global database on vitamin A deficiency. Geneva, World Health Organization, 2009.
4. Azais-Braesco V, Pascal G. Vitamin A in pregnancy: requirements and safety limits. *Am J Clin Nutr*. 2000; 71(5): S1325-S1333.
5. Underwood B. Maternal vitamin A status and its importance in infancy and early childhood. *Am J Clin Nutr*. 1994; 59: 517S-524S.
6. Ramalho AR, Anjos LA, Flores H. Vitamin A status in mother and newborn pairs from two health facilities in Rio de Janeiro, Brazil. *Anch Latinoam Nutr*. 1999; 4: 318-21.
7. Stoltzfus RJ, Underwood BA. Breast-milk vitamin A as an indicator of the vitamin A status of women and infants. *Bull World Health Organ*. 1995; 73: 701-11.
8. Olson JA. Recommended dietary intake (DRI) of vitamin in humans. *Am J Clin Nutr*. 1987; 45(4): 704-16.
9. Vitolo MR, Accioly E, Ramalho R A, Soares A G, Cardoso C B, Carvalho E B. Níveis de vitamina A no leite maduro de nutrízes adolescentes e adultas de diferentes estratos socioeconômicos. *Rev Ciencias Medicas*. 1999; 8(1): 3-10.
10. Mello-Neto J, Rondó PHC, Oshiiwa M, Morgano MA, Zacari CZ, Domingues S. The influence of maternal factors on the concentration of vitamin A in mature breast milk. *Clin Nutr*. 2009; 28(2): 178-81.
11. Hussey GD, Klein M. Measles-induced vitamin A deficiency. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1992; 669: 188-96.
12. Macias C, Schweigert FJ. Changes in the concentration of carotenoids, vitamin A, alpha-tocopherol and total lipids in human milk throughout early lactation. *Ann. Nutr. Metab*. 2001; 45(2): 82-5.
13. Melo ILP, Ribeiro KDS, Dimenstein R. Estudo das variações dos níveis de retinol no colostro de parturientes a termo e pré-termo. *Rev Bras Saúde Matern Infant*. 2004; 4(3): 249-52.
14. Ribeiro KDS, Dimenstein R. Foremilk and hindmilk retinol levels. *Pan Am J Public Health*. 2004; 16(1): 19-22.
15. Meneses F, Trugo N. Retinol, β -caroteno, and lutein zeaxanthin in the milk of Brazilian nursing women: associations with plasma concentrations and influences of maternal characteristics. *Nutr Res*. 2005; 25:443-51.

16. Nascimento MBR, Issler H. Breastfeeding: Making the difference in the desenvolvimento, health and nutrition of term and preterm newborns, *Revista do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de São Paulo*. 2003;58(1): 49 – 60.
17. Haskell M, Brown K. Maternal vitamin A nutriture and vitamin A content of human milk. *J Mamm Gland Biol Neopl*. 1999;4:243-57.
18. Giuliano AR, Neilson EM, Kelly BE, Canfield LM. Simultaneous Quantitation and Separation of Carotenoids and Retinol in Human Milk by High-Performance Liquid Chromatography. *Meth Enzymo*. 1992; 213:391-99.
19. Campos JM. Perfil nos níveis de vitamina A e E em leite de doadoras primíparas e múltiparas em Bancos de Leite Humano. Dissertação de mestrado – Departamento de nutrição da Universidade Federal de Pernambuco /UFPE. Recife, 2005.
20. Dimenstein R, Simplicio JL, Ribeiro KD, Melo IL. Retinol levels in human colostrum: influence of Child, maternal and socioeconomic variables. *J Pediatr (Rio J)* 2003; 79: 513-8.
21. Schweigert FJ, Bathe K, Chen F, Büscher U, Dudenhausen JW. Effect of the stage of lactation in humans on carotenoid levels in milk, blood plasma and plasma lipoprotein fractions. *Eur J Nutr*. 2004; 43(1):39–44.
22. Chappell JE, Francis T, Clandinin MT. Vitamin A and E content of human milk at early stage of lactation. *Early hum Develop*. 1985; 11:157-67.
23. Ahmed F, Azim A, Akhtaruzzaman M. Vitamin A deficiency in poor, urban, lactating women in Bangladesh: factors influencing vitamin A status. *Publ Health Nutr*. 2003; 6(5): 447-52.
24. Institute of Medicine (IOM), Food and Nutrition Board. Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc. Washington, DC: National Academy Press; 2001.
25. Ross JS, Harvey P. Contribution of breastfeeding to vitamin A nutrition of infants: a simulation model. *Bull World Health Organ*. 2003; 81:80-6.
26. Vitolo M R. Nutrição da gestante à adolescência: Aleitamento Materno e alimentação da Nutriz. Rio de Janeiro: Reichmann & Affonso Editores, 2003.
27. Ribeiro KDS, Araújo KF, Dimenstein R. Efeito da suplementação com vitamina A sobre a concentração de retinol no colostro de mulheres atendidas em uma maternidade pública. *Rev Assoc Med Bras*. 2009; 55(4): 452-7.

Recibido: 15-06-2010

Aceptado: 24-10-2010

Estimación de la masa grasa por DXA y el modelo de cuatro compartimentos en púberes mexicanos de 9 a 14 años

Erik Ramírez, Mauro E. Valencia, Silvia Y. Moya Camarena, Heliodoro Alemán-Mateo, Rosa O. Méndez

Centro de Investigación en Nutrición y Salud Pública. Facultad de Salud Pública y Nutrición.
Universidad Autónoma de Nuevo León. Monterrey, Nuevo León, México. División de Nutrición.
Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A. C. Hermosillo, Sonora, México

RESUMEN. Se evaluó la precisión y exactitud en la estimación de la grasa corporal (%) por absorciometría dual de rayos X (DXA Lunar-DPX-MD) comparado con el modelo de cuatro compartimentos (4C) en 32 púberes (F=16) de 9 a 14 años. El sesgo entre la DXA y el modelo de 4C fue de -3.5% de grasa ($r=0.25$; $p=0.171$) con un intervalo de confianza de -1.9 a -5.1 ($p=0.050$). Los límites de concordancia al 95% fueron de +5% a -12% de grasa. El coeficiente de correlación de concordancia fue de $p_c=0.85$. La prueba de exactitud por análisis de regresión mostró que el intercepto y la pendiente de las estimaciones de grasa corporal por DXA fueron diferentes al modelo de 4C ($p>0.05$). La precisión evaluada con el valor de R^2 mostró que la DXA explicó el 83% de la varianza de la grasa corporal por el modelo de 4C con un error de 4.1%. El error total como medida de exactitud fue de 5.6%. La exactitud grupal evaluada por análisis de varianza no mostró interacción entre el método (DXA-4C) y el análisis por separado del sexo, el estado puberal y la presencia de sobrepeso. No obstante, hubo efecto del método ($p=0.043$) en presencia de sobrepeso ($p<0.001$). En conclusión, los resultados muestran que el uso de la DXA comparado con el modelo de 4C no es equivalente en púberes mexicanos. Sin embargo, estos datos no limitan el uso de la DXA en estudios de composición corporal y su relación con anomalías metabólicas.

Palabras clave: DXA, composición corporal, México, púberes, porcentaje de grasa.

INTRODUCCION

En la evaluación del estado de nutrición, la composición corporal proporciona datos necesarios para interpretar la relación entre componentes de interés médico como la masa grasa (MG) y la masa libre de grasa (MLG). La evaluación de la composición corporal por técnicas indirectas como la absorciometría dual de rayos X (DXA) se ha convertido en una importante herramienta para la evaluación y seguimiento de la obesidad y enfermedades relacionadas (1,2). No obstante, la precisión de la DXA en la estimación de la grasa corporal ha sido cuestionada debido a que entre otros no se han establecido criterios uniformes de validación; existen diferencias en cuanto a los métodos usados; el tipo de equipo de DXA empleado así como los softwares utilizados. Otro

SUMMARY. Estimation of body fat by DXA and the four compartment model in Mexican youth. The objective of this study was to validate the estimation of body fat (%BF) by DXA (Dual-Energy X-Ray AbsorciomDPX-MD) against the four compartment model (4C) of body composition in 32 Mexican pubertal girls and boys (aged 9 – 14y; F=16). The mean of the difference between DXA and 4C model was -3.5 %BF ($p=0.171$). The limits of agreement ($95\% \pm 2$ SD) were +5% to -12%BF. The precision of estimated limits of and the confidence intervals were -1.9% to -5.1%BF ($P=0.050$). The concordance correlation coefficient was $p_c = 0.85$. The test of accuracy for coincidence of slop intercepts between DXA and the 4C model showed no coincidence ($p< 0.05$). The precision by R^2 explained 83% of the variance (SEE, 4.1 %). The individual accuracy assess by the total error was 5.6%. The group mean accuracy by two way analysis of variance of body fat did not show interaction between method (DXA-4C model) and separate analysis of gender and overweight. However, there was an effect of method ($p=0.043$) in the presence of overweight ($p<0.001$). In conclusion, the estimation of percent of body fat by DXA was not precise and accurate in a group of Mexican children. However, results do not limit the utility of DXA for the measurements of body composition and its relation with health outcomes, especially in follow up studies.

Key words: DXA, body composition, Mexican youth, body fat percentage.

factor a considerar es el grupo étnico ya que se han observado diferencias en todos los componentes de la composición corporal derivados de las mediciones con DXA en niños blancos de Estados Unidos y de origen mexicano de 3 a 18 años (3). En países como México y América Latina, el uso de la DXA se ha reportado en algunos estudios con niños y adolescentes para asociar la cantidad de masa grasa con la resistencia a la insulina y otros factores de riesgo cardiovascular así como para comparar técnicas en la evaluación de la adiposidad con relación a la desnutrición crónica (2, 4). Sin embargo, no se dispone de referencias en nuestra región que permitan contrastar las conclusiones acerca de la confiabilidad de la DXA en la evaluación de la grasa corporal en poblaciones diferentes a las caucásicas. En éste tipo de poblaciones, la mayor parte de los estudios de

validación mostraron resultados poco satisfactorios y sólo algunos resaltaron la confiabilidad de la DXA en la evaluación de la grasa corporal en niños y adolescentes (5- 9).

La validación de la DXA debe realizarse con métodos que permitan atenuar la variación biológica debida a la MLG (principalmente masa ósea y la hidratación de la MLG). El modelo de 4C permite resolver estas variaciones biológicas y se considera un método de referencia para validar otros métodos (3). El objetivo de este estudio fue validar la estimación de la masa grasa por DXA considerando como referencia el modelo de 4C en un grupo de púberes mexicanos de 9 a 14 años. Como un objetivo secundario, se propuso explorar la relación entre la masa grasa por el modelo de 4C y DXA con los pliegues cutáneos tricípital, bicípital, abdominal, suprailíaco y subescapular.

MATERIALES Y METODOS

Sujetos

Estudio descriptivo transversal. Se evaluaron 32 púberes (16 mujeres y 16 varones) con peso mayor a 34 kg. Los escolares pertenecían a escuelas públicas urbanas del estado de Sonora, México; sin relación cultural con algún grupo indígena. Todas las mediciones antropométricas y de composición corporal se realizaron en los laboratorios de la División de Nutrición, Área de Composición Corporal del CIAD, A.C durante el periodo de 2005 a 2006. Se utilizó un cuestionario médico general para determinar el estado de salud de los participantes y descartar alguna patología o el uso de medicamentos que pudieran alterar la composición corporal en los últimos tres meses. El grado de madurez sexual se evaluó por medio de la escala de Tanner con el uso de un cuestionario autoadministrado (10,11). Este estudio fue aprobado por el Comité de Ética del CIAD, A.C. (Centro de investigación en Alimentación y Desarrollo).

Evaluación antropométrica

Todas las mediciones antropométricas se realizaron por una persona estandarizada en concordancia con lo sugerido por los criterios del Airlie Conference Committee o grupo de estandarización antropométrica y en todos los casos, el error técnico de la medición (ETM) intraobservador se encontró dentro de los límites reportados (12). La estatura y el peso se midieron por duplicado y se tomó el promedio de las mediciones como el valor final a considerar. La talla se midió con un estadiómetro (2.05 ± 0.1 cm; Holtain Ltd, Dyfed, Reino Unido). El peso corporal se midió con una balanza electrónica digital (150 ± 0.01 kg) conectada al BOD-POD (Body Composition System, Life Measurement Instruments, Concord, CA). Para ésta última medición, los participantes se vistieron con un traje de baño ajustado. El ETM para la talla y el peso respectivamente fueron de 0.2 mm y 0.01 kg.

Adicionalmente, se midieron los pliegues cutáneos: tricípital, bicípital, abdominal, suprailíaco y subescapular con un plicómetro Holtain T/W Skinfold Caliper (Holtain Ltd, Dyfed, Reino Unido). Las mediciones se realizaron por triplicado y se tomó el promedio como el valor final a considerar. Para fines descriptivos, el pliegue abdominal se tomó del lado derecho, a 3 cm de la cicatriz umbilical y uno por debajo de forma vertical. El ETM del pliegue tricípital fue de 0.36 mm, bicípital 0.37 mm, abdominal 0.44 mm, suprailíaco 0.64 mm y subescapular 0.91 mm.

Composición corporal

Densidad corporal

La densidad corporal (D_b) se calculó con un pletismógrafo de desplazamiento de aire o BOD-POD. (Body Composition System, Life Measurements Instruments, Concord, CA, USA Versión 1.69). El sistema ha sido validado en otros grupos de edad en nuestro laboratorio (13). Antes de cada medición, el BOD-POD se calibró de acuerdo a las recomendaciones del fabricante. De igual forma, los procedimientos para la medición del volumen corporal y el volumen de gas torácico se explicaron a cada participante. Después de la calibración, los púberes entraron en el BOD-POD con traje y gorra de baño ajustados para natación. Posteriormente, el volumen corporal se midió mientras los sujetos permanecían sentados y respirando normalmente. Con la corrección del volumen corporal y la medición del peso corporal se obtuvo la D_b . La reproducibilidad de la medición de la densidad por el BOD-POD ha sido reportada previamente en otro estudio (14).

Agua corporal total

Al ingresar al Laboratorio de Composición Corporal del CIAD A.C., los púberes recibieron un desayuno ligero (jugo de naranja y un sándwich) ya que no se consideró ético que permanecieran en ayuno prolongado. Cuarenta y cinco minutos después del desayuno, a los participantes se les requirió una muestra de saliva para medir sus niveles naturales de deuterio. Posteriormente, recibieron una dosis exacta vía oral de óxido de deuterio (0.2 g/kg de peso corporal; 99.9% de átomo; Cambridge Laboratorios, Andover, MA). Los recipientes se enjuagaron con 20 mL de agua de la región con el fin de garantizar la ingestión total de la dosis. Después de un periodo de 3.5 a 4.0 horas, a los púberes se les pidió otra muestra de saliva para establecer sus niveles posdosis o de enriquecimiento de deuterio. El tiempo posdosis se estableció en un estudio piloto ($n= 37$) en escolares de la misma edad, donde se encontró que el tiempo de equilibrio o meseta se obtuvo dentro de las primeras 4 h (535 ppm a las 3.0 h y 536 ppm a las 4.0 h; $p > 0.05$). La concentración de isótopos se midió en un espectrómetro de masas de relación isotópica (DELTA PLUS, Thermo Finnigan, Bremen, Alemania) en la

Unidad de Investigación del Centro Médico Nacional, Siglo XX, IMSS, en la Ciudad de México. La muestra líquida se evaporó y se redujo a gas hidrógeno en presencia de cromo a una temperatura de 850 °C. Los resultados del análisis fueron expresados en relación a los estándares medidos por el V-SMOW (Patrón de la composición promedio de agua oceánica) y de la SLAP (Patrón de Precipitación Ligera Antártica; Agencia Internacional de Energía Atómica, Viena, Austria) con una precisión de 0.16–0.32 ppm. El agua corporal total (ACT) se calculó de acuerdo con el principio de dilución que permite determinar un volumen desconocido (ACT) a partir de un volumen y concentración de isótopo conocidos (agua deuterada). Finalmente, para evitar la sobreestimación del ACT el espacio de dilución del deuterio en el cuerpo se corrigió por el intercambio isotópico (4%) en otros compartimentos no acuosos (15).

Contenido mineral óseo y masa grasa por DXA

El contenido mineral óseo (CMO) se midió con un equipo de DXA Lunar (DPX-MD densitometer, versión del software 5.00, GE Lunar Radiation Corporation, Madison, WI, EE.UU.). La medición de cada púber se realizó con el mínimo de ropa (camiseta y pantalón corto) y sin objetos metálicos. La MG se obtuvo ajustando la estimación del tejido graso por DXA con el peso corporal obtenido de una báscula digital.

Modelo de cuatro compartimentos

El modelo de 4C se usó como método de referencia para validar las estimaciones de grasa por DXA. Para obtener la MG por el modelo de 4C, se empleó la ecuación modificada de Lohman (3): $MG \text{ kg} = (2.749 / Db - 0.714 w + b 1.146 - 2.0503)$, donde Db es la densidad corporal, w es el agua corporal total (L) expresada como fracción de la masa corporal, y b es el mineral corporal total (MCT; kg) expresado como fracción de la masa corporal total. El CMO de la DXA representa el hueso convertido en ceniza y para obtener el MCT, el contenido mineral óseo se multiplicó por el factor 1.22 (3).

Análisis estadístico

El sesgo entre las mediciones de grasa corporal por DXA y el modelo de 4C se evaluó con el procedimiento de Bland y Altman (16). Para este fin, se calcularon los límites de concordancia al 95% y su precisión se evaluó con los intervalos de confianza al 95%. La ausencia de relación entre las diferencias y la magnitud de las mediciones se confirmó analizando la significancia de la asociación de las diferencias con respecto al promedio de las mediciones del porcentaje de masa grasa (11).

La exactitud individual entre DXA y el modelo de 4C se evaluó por análisis de regresión al comparar el intercepto y la pendiente de la relación entre el DXA y el modelo de 4C contra la línea de identidad (modelo de 4C) que representa el valor

verdadero. Para lo anterior, se consideró que el intercepto del modelo de DXA no fuese diferente de cero y la pendiente no fuese diferente de uno en base a los intervalos de confianza del 95% para estos parámetros. La precisión se evaluó con el valor de R^2 y el error estándar del estimador (EES) de la regresión simple entre el DXA y el modelo de 4C (3).

Adicionalmente, se calculó el coeficiente de correlación de concordancia ($p_c = p c_b$) que evalúa el grado en que cada par de observaciones se localiza cerca de la línea de 45° que parte desde el origen. El valor de p es el coeficiente de Pearson y es una medida de precisión que determina la desviación de cada observación de la línea de correlación; c_b es un factor de corrección del sesgo y es una medida de exactitud que determina la desviación de la línea de correlación con respecto a la línea de 45° (17). Para comparar los resultados de éste estudio con otros publicados, se calculó el error total (ET) como medida de exactitud: $ET = \text{raíz} [(\sum (4C - DXA)^2 / N)]$; donde N es igual al número de sujetos (18). La exactitud grupal se evaluó por análisis de varianza de dos vías añadiendo como factores el método (DXA y el modelo de 4C) y analizando por separado la interacción con el género (masculino-femenino), el estado de madurez (Tanner I, II vs. III, IV) y la presencia de sobrepeso ($IMC < 85$ percentil vs. $IMC \geq 85$ percentil; 19). La comparación per se por estadios de Tanner y de sobrepeso en el grupo de estudio no fue un objetivo prioritario de esta investigación, sólo la influencia de estas variables sobre la exactitud grupal de la DXA en comparación con el método de 4 compartimentos.

Adicionalmente, se analizó la relación entre la masa grasa por el modelo de 4C y DXA con los pliegues cutáneos tricipital, bicipital, abdominal, suprailíaco y subescapular. Los datos fueron analizados utilizando el programa estadístico NCSS 2001 (Number Cruncher Statistical System for Windows, Kaysville, UT, EE.UU.).

RESULTADOS

Las características físicas y de composición corporal se muestran sólo como estadística descriptiva en la Tabla 1. No se encontraron niños con desnutrición crónica de acuerdo con el indicador de talla para la edad y el número de varones y mujeres con sobrepeso fue similar según el percentil del $IMC \geq 85$.

La Tabla 2 muestra los resultados de la evaluación del sesgo entre la DXA y el modelo de 4C en términos de porcentaje de grasa y de kilogramos de masa grasa. En promedio, la DXA subestimó la proporción de grasa en 3.5% comparado con el modelo de 4C. Los resultados indican que en el 95% de los casos (± 2 DE), una medición por DXA pudiera estar hasta 12.4% por debajo o 5.4% por arriba del valor obtenido por el modelo de 4C. Específicamente, el 91%

(29 sujetos) de las observaciones estuvo dentro de estos límites (Figura 1). Los límites de concordancia dependen del supuesto de una distribución homogénea y normal de las diferencias a través del intervalo de mediciones. En este sentido, no se encontró relación entre las diferencias y la magnitud de las

mediciones ($r=0.25$; $p=0.17$). El intervalo de confianza mostró que si se midiera otra muestra independiente, el 95% de los sujetos evaluados por DXA se encontraría entre -5.1% y -1.9% de grasa corporal comparado con el modelo de 4C.

TABLA 1
Características físicas de los sujetos del estudio

Características físicas	Masculino (n= 16)		Femenino (n= 16)	
	Media \pm DE	Intervalo	Media \pm DE	Intervalo
Edad, años	12.2 \pm 2.0	9.3- 14.9	12.1 \pm 1.6	9.1- 14.3
Peso, kg	53.7 \pm 13.2	35.9- 85.0	54.9 \pm 12.0	37.4- 75.0
Estatura, cm	156.8 \pm 11.2	136.8- 176.3	152.3 \pm 10.3	135.2- 170.0
Z, T/E	0.32 \pm 0.96	-1.85- 2.25	-0.08 \pm 0.91	-1.28- 2.09
IMC, kg/m ²	21.6 \pm 3.6	14.8- 27.6	26.6 \pm 4.3	17.4- 32.5
IMC = 85 Percentil (n)	10		10	
Composición Corporal				
ACT, L	25.0 \pm 7.1	15.4- 39.7	23.0 \pm 4.0	17.2- 31.0
Contenido mineral óseo, kg	2.03 \pm 0.56	1.27- 3.15	2.12 \pm 0.55	1.32- 3.30
Masa magra DXA, kg	35.2 \pm 8.4	23.2- 51.4	31.4 \pm 4.7	23.1- 39.1
MLG 4C Lohman, kg	34.5 \pm 9.4	21.8- 53.0	32.8 \pm 5.5	24.7 - 41.6
Densidad Corporal, g/cm ³	1.0246 \pm 0.006	0.9984- 1.0765	1.0223 \pm 0.0159	0.9940- 1.0480
% Grasa, DXA	29.6 \pm 11.4	7.9- 45.2	37.7 \pm 8.5	23.9- 51.3
% Grasa, 4C	35.4 \pm 10.0	14.5- 48.3	38.9 \pm 9.3	22.5- 52.4

Abreviaciones: Z, T/E: puntaje Z de estatura para la edad (CDC/Growth Charts 2000); IMC \geq 85 Percentil: índice de masa corporal correspondiente a los percentiles del CDC/Growth Charts, 2000; ACT: Agua corporal total; MLG 4C Lohman: Masa libre de grasa por la ecuación de 4 compartimentos de Lohman. Los valores están expresados como media \pm DE.

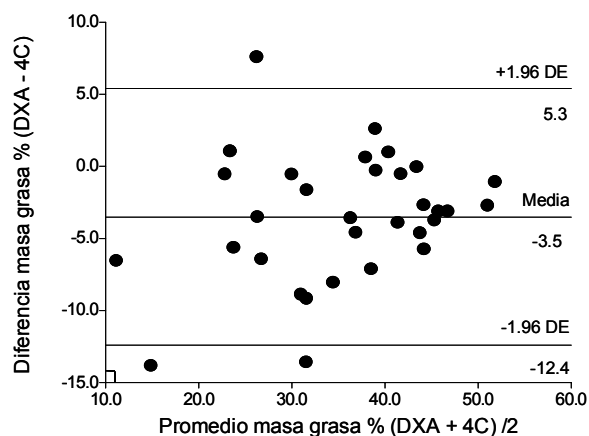
TABLA 2
Sesgo y concordancia entre DXA y el modelo de 4 compartimentos para la masa grasa corporal

Variable	Valor
Media de las diferencias, % grasa	-3.5
95%, intervalo de confianza	-5.1, -1.9
Límites de concordancia, (\pm 2 DE)	-12.4 a + 5.4
Coefficiente de correlación de concordancia	0.85
Error Total	5.6
Media de las diferencias, masa grasa kg	-1.7
95% intervalo de confianza	-2.5, -1.0
Límites de concordancia, (\pm 2 DE)	-5.8 a + 2.4
Coefficiente de correlación de concordancia	0.95
Error Total	2.6

Abreviaturas: 4C, cuatro compartimentos; DE, desviación estándar.

FIGURA 1

Diferencias en la proporción de masa grasa (MG) por DXA con respecto al modelo de 4 compartimentos (4C) contra el promedio de sus mediciones. No se encontró asociación entre las diferencias y la magnitud de las mediciones ($r=0.25$; $p=0.17$). Se muestran los límites de concordancia al $95\% \pm 2$ DE (líneas discontinuas)

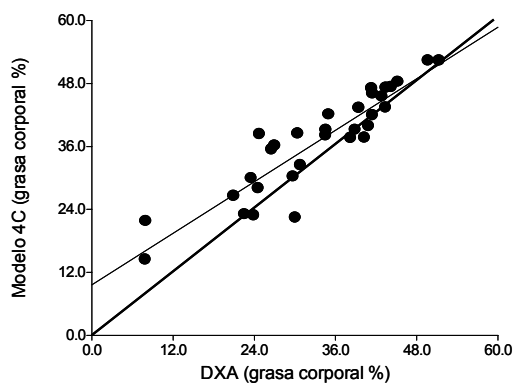


Por otra parte, el coeficiente de correlación de concordancia para el porcentaje de grasa ($p_c = 0.85$) fue más bajo que el coeficiente para el valor de la masa grasa en kilogramos ($p_c = 0.95$). El error total (ET) como medida de exactitud fue de 5.6% de grasa corporal. La regresión de DXA sobre el modelo de 4C mostró que el intercepto y la pendiente fueron diferentes respecto a la línea de identidad (modelo de 4C; Figura 2). La precisión evaluada con el valor de R^2 mostró que la DXA explicó sólo el 83% de la variabilidad de la grasa corporal del modelo de 4C con un error de 4.1% (Figura 2).

FIGURA 2

Prueba de exactitud para la estimación de grasa corporal por DXA contra el modelo de 4C (cuatro compartimento).

La línea de regresión (línea discontinua) entre DXA y el modelo de 4C no mostró coincidencia con la línea de identidad (línea sólida: modelo de 4C; ($p > 0.05$); $R^2 = 0.83$; error estándar del estimador = 4.1. Coeficiente de correlación de concordancia = 0.85



La Tabla 3 muestra el análisis de varianza por dos vías de las estimaciones de masa grasa por el modelo de 4C y la DXA como factores y su interacción con otras variables. No se encontró interacción entre el método y las variables sexo, estado puberal y sobrepeso ($p > 0.05$). No obstante, se encontró efecto del sexo en las estimaciones de grasa por los dos métodos ($p = 0.022$). Las mujeres tuvieron 3.5% más grasa corporal que los varones (Tabla 3). También se observó efecto del estado puberal en las estimaciones de masa grasa por el modelo de 4C y la DXA. Los púberes en los estados de Tanner I y II tuvieron una mayor proporción de grasa corporal (41.1%) que los púberes en los estados III y IV (34.8%; $p = 0.020$). Asimismo se observó efecto por la presencia de sobrepeso ya que la proporción de grasa corporal entre sujetos con sobrepeso y los que no presentaban sobrepeso fue respectivamente de 42.4% y 28.4% ($p < 0.001$). Se encontró además un efecto del método en la determinación de grasa corporal, ya que los sujetos con y sin sobrepeso evaluados con el modelo de 4C presentaron valores de 35.4% de grasa corporal contra 31.6% por DXA ($p = 0.043$).

La relación entre el porcentaje de grasa por DXA y los pliegues cutáneos bicipital, tricipital, subescapular, abdominal y suprailiaco fue significativa ($p < 0.05$). La correlación más fuerte se observó con el pliegue cutáneo tricipital ($r = 0.90$) y la más débil con el pliegue suprailiaco ($r = 0.72$). Un análisis de regresión simple reveló que el pliegue tricipital explicó por sí sólo el 70% de la variabilidad de la grasa corporal por DXA (EES= 5.3) y el 80% por el modelo de 4C (EES= 4.8)

TABLA 3

Proporción de masa grasa (% MG) por el modelo de 4 Compartimentos (4C % MG) y DXA en púberes mexicanos

Método	Categorías		
	Todos (32)	Masculino (16)	Femenino (16)
4C, %MG	37.2 ± 1.7	35.4 ± 2.5 ^a	38.9 ± 2.5 ^b
DXA, %MG	33.7 ± 1.7	26.6 ± 2.5 ^a	37.7 ± 2.5 ^b
Todos (32)	Tanner I y II (12)	Tanner III y IV (20)	
4C, %MG	38.0 ± 1.7	41.1 ± 2.9 ^a	34.8 ± 2.2 ^b
DXA, %MG	34.4 ± 1.7	37.4 ± 2.9 ^a	31.4 ± 2.2 ^b
Todos (32)	IMC < 85 percentil (12)	IMC ≥ 85 percentil (20)	
4C, %MG ^a	35.4 ± 1.3	28.4 ± 2.1 ^a	42.4 ± 1.6 ^b
DXA, %MG ^b	31.6 ± 1.3	23.6 ± 2.1 ^a	39.7 ± 1.6 ^b

Exactitud grupal de la DXA contra el modelo de 4C por análisis de varianza de 2 vías analizando por separado la interacción con el género: masculino y femenino; el estado de madurez: Tanner I, II vs. Tanner III, IV, y la presencia de sobrepeso: IMC < 85 percentil vs. IMC ≥ 85 percentil. Los valores representan media ± EE. El número de sujetos se indica entre paréntesis. Entre los niveles de cada categoría se indica con letras distintas el efecto significativo del género ($p = 0.022$), del estado de madurez sexual ($p = 0.020$) y del sobrepeso ($p < 0.001$). El efecto significativo del método se indica con letras diferentes ($p = 0.043$).

DISCUSION

La estimación de la grasa corporal por DXA comparada con el modelo de 4C se evaluó en 32 púberes mexicanos de 9 a 14 años. En general, la DXA subestimó la proporción de grasa corporal en comparación con el modelo de 4C en 3.5% de grasa corporal. Los límites de concordancia fueron de -12% a 5%, lo que establece una variabilidad amplia en la estimación de grasa corporal por DXA. Para conocer qué tan confiables serían las estimaciones de grasa por DXA en una muestra independiente, el cálculo del intervalo de confianza mostró que se obtendría una diferencia de 3% de grasa corporal. No obstante, se tendría que valorar nuevamente la amplitud de los límites de concordancia para respaldar su confiabilidad.

Al evaluar la exactitud por análisis de regresión, los valores de grasa corporal por DXA no fueron exactos ni precisos; el intercepto y la pendiente por DXA y el modelo de 4C fueron diferentes de la línea de identidad. De igual forma, al comparar los resultados de éste estudio con otros métodos, el valor de concordancia de la DXA resultó bajo comparado con el método de dilución con deuterio ($p_c = 0.91$) y con el BOD-POD ($p_c = 0.88$).

Los datos de éste estudio muestran que el DXA como método es poco confiable para ofrecer estimaciones de grasa corporal. En 30 púberes de 8 a 12 años, Wells et al., (5) reportó límites de concordancia de 13% de grasa en la estimación por DXA comparado con el modelo de 4C. Roemmich et al., (6) en 47 púberes reportó resultados similares a los nuestros en la media de las diferencias y en los límites de concordancia. Si bien la media de las diferencias entre la DXA y el modelo de 4C se ha reportado entre -2% y 1.9%, los límites de concordancia en todos los casos han sido inaceptables (5-8).

Un factor que modifica la precisión de DXA es el tipo de muestra. En el presente estudio, al evaluar la relación entre el método y el grado de sobrepeso, las estimaciones de grasa corporal por DXA fueron menores en comparación con el modelo de 4C. Lo anterior, coincide con otros estudios reportados en niños con sobrepeso donde se ha observado que la DXA ha sido el método menos confiable en comparación con el método de dilución con deuterio y el BOD-POD. No obstante, de acuerdo al análisis de varianza no se encontró interacción entre el método y la presencia de sobrepeso, por lo que las diferencias en la estimación de grasa corporal se mantuvieron constantes y en la misma dirección. Un mayor número de muestra pudiera revelar interacciones ya que se ha observado que algunas de las diferencias entre sujetos con sobrepeso pueden ser atribuidas entre otras, al supuesto en la hidratación de la MLG de la DXA, el grosor de los pliegues y la madurez ósea (3,20).

La interacción del estado puberal con el método (DXA vs. 4C) también se evaluó en el presente estudio y se encontró

influencia entre los estados de madurez sexual y la evaluación de la grasa corporal por DXA ó el modelo de 4C. El porcentaje de grasa corporal tendió a ser más alto en los estadios I y II que en los estadios III y IV. Cabe mencionar que en cuanto al comportamiento de las variables de composición corporal en relación con el género y la madurez sexual (datos no mostrados) no se encontraron diferencias significativas entre varones y mujeres en el porcentaje de grasa ($p = 0.058$), densidad corporal ($p = 0.125$), contenido mineral óseo ($p = 0.078$) y ACT ($p = 0.065$); no obstante, se observó que estas diferencias se acercan a la significancia. Los resultados fueron similares a lo reportado en otros estudios (6) y están en concordancia con los cambios atribuidos a la pubertad y el género (21). De igual forma no se observaron diferencias en el IMC entre ambos sexos ($p = 0.065$).

La exactitud individual evaluada con el error total (ET; 5.6%) del DXA respecto al modelo de 4C, permite la comparación con otros estudios. Se han reportado valores de ET de 3.6% y 4.05% de grasa (5, 6). Por su parte, el valor de EES se ha empleado con frecuencia para expresar la precisión de un método con respecto a otro (3). En éste estudio, DXA explicó sólo el 83% de la variación por el modelo de 4C con un error de 4.1%. Se ha sugerido considerar un valor del EES cercano o por debajo de 3% de GC para considerar a un método confiable. Sopher et al., (9) reportó un valor del EES de 3.7%, lo que resultó similar a nuestros resultados. No obstante, ellos consideraron que estas diferencias no limitan la utilidad de DXA para la evaluación de la grasa corporal en estudios clínicos. Nuestros resultados sugieren que es necesario valorar las limitaciones y usos de la DXA en cada tipo de estudio.

La validación de la DXA no ha sido satisfactoria en poblaciones caucásicas mientras que en otros grupos étnicos se desconoce su confiabilidad. Sin embargo, es frecuente que se use como método de referencia en composición corporal para el diseño de ecuaciones de predicción de grasa basadas en antropometría (22). Aunque nuestro estudio mostró que el pliegue tricípital puede explicar hasta el 70% de la variación en la grasa corporal por la DXA, se ha sugerido tener precaución con el método de absorciometría dual de rayos X al comparar grupos o realizar estudios de seguimiento, ya que las dimensiones corporales así como el grosor de los pliegues cutáneos afectan la precisión de las estimaciones de la grasa corporal (3).

A pesar de las limitaciones de la DXA, en países con economías emergentes se dispone de ésta tecnología cada vez en mayor número. Esto se debe a la utilidad y ventajas que tiene la DXA para evaluar la grasa regional, la grasa abdominal, los tejidos blandos magros y la masa ósea. Además, es un método excelente para evaluar la masa muscular apendicular esquelética en comparación con la tomografía axial computarizada; y es promisorio su uso como un método de referencia para evaluar los cambios en la composición corporal

(3). Los procesos de validación de la DXA deberán ser constantes para establecer su exactitud mientras continúen surgiendo nuevos modelos y tecnologías.

Respecto a las limitaciones del estudio es importante señalar que los resultados pueden generalizarse a niños con las mismas características, por lo que se requieren de otros trabajos que soporten la validez de la DXA en escolares de menor edad e incluso en otros grupos étnicos. En el presente estudio se decidió incluir sólo a niños de 9 a 14 años y debido a la limitación de la versión del software para estimar de forma confiable la masa grasa en niños de menor edad. No obstante, esto permitió a su vez evitar una mayor variabilidad en la muestra al no incluir a los niños menores de 9 años.

En conclusión, la estimación de grasa corporal por DXA comparada con el modelo de 4C no fue precisa ni exacta en púberes mexicanos de 9 a 14 años. No obstante, por su disponibilidad, la DXA tiene el mayor potencial de uso en pediatría en comparación con el BOD-POD por lo que estos resultados no limitan el uso de la DXA en aplicaciones de composición corporal, sobre todo aquellas que evalúan la composición regional del cuerpo y su relación con anormalidades metabólicas o las aplicaciones en estudios de seguimiento en tiempos relativamente cortos.

AGRADECIMIENTOS

A los padres y a los púberes por su entusiasta participación. A la Secretaria de Educación y Cultura del Estado de Sonora y a los directores de las escuelas por facilitar el acercamiento con los padres de familia. Agradecemos también a Alma Robles Sardín, Ana Cristina Gallegos y Gloria Ramírez por el apoyo técnico. Este estudio fue financiado por el CONACyT, Convocatoria de Salud 2003-C01-56 a MEV, y por una beca Doctoral a ER por el CONACyT-Mexico.

REFERENCIAS

1. Wells JCK, Fewtrell MS. Measuring body composition. *Arch Dis Child* 2006; 91:612-617.
2. Cisneros-Tapia R, Navarrete FA, Gallegos AC, Robles-Sardin AE, Mendez RO, Valencia ME. Insulin sensitivity and associated risk factors in Mexican children and adolescents. *Diabetes Care* 2005; 28:2546-2547.
3. Lohman TG and Chen Z. Dual-Energy X-Ray Absorciometry. In: Heymsfield SB, Lohman TG, Wang ZM, Going SB, editors. *Human Body Composition*. 2nd ed. Champaign Il: Human Kinetics; 2005, p. 63-77.
4. Hoffman DJ, Sawaya AL, Martins PA, McCrory MA, Roberts SB. Comparison of Techniques to Evaluate Adiposity in Stunted and Nonstunted. *Pediatrics* 2006; 117:725-732.
5. Wells KCK, Fuller NJ, Dewit O, Fewtrell M, Elia M, Cole T. Four-component model of body composition in children: density and hydration of fat-free mass and comparison with simpler models. *Am J Clin Nutr* 1999; 69:904-912.
6. Roemmich JN, Clark PA, Weltman A, Rogol AD. Alterations in growth and body composition during puberty. I. Comparing multicompartment body composition models. *J Appl Physiol* 1997; 83:927-935.
7. Gately PJ, Radley D, Cooke CB, Carrol S, Oldroyd B, Truscott JG et al. Comparison of body composition methods in overweight and obese children. *J Appl Physiol* 2003; 95:2039-2046.
8. Fields D, Goran MI. Body composition techniques and the four-compartment model in children. *J Appl Physiol* 2000; 89:613-620.
9. Sopher AB, Thornton JC, Wang J, Pierson RN, Jr, Heymsfield SB, Horlick M. Measurement of Percentage of Body Fat in 411 Children and Adolescents: A Comparison of Dual-Energy X-Ray Absorptiometry With a Four-Compartment Model. *Pediatrics* 2004; 113:1285-1290.
10. Tanner JM. *Growth and Adolescence*. 2nd ed. Oxford, UK: Blackwell; 1962.
11. Duke PM, Litt IF, Gross RT. Adolescents' self-assessment of sexual maturation. *Pediatrics* 1980; 66:918-920.
12. Lohman TG, Roche AF, R M: *Anthropometric standardization reference manual*. Champaign, IL: Human Kinetics. 1988.
13. Alemán-Mateo H, Huerta RH, Esparza-Romero J, Méndez RO, Urquidez R, Valencia ME: Body composition by the four-compartment model: Validity of the BOD POD for assessing body fat in Mexican elderly. *Eu J Clin Nutr* 2007; 61:830-836.
14. Ramírez E, Valencia ME, Moya-Camarena SY, Alemán-Mateo A, Méndez RO. Four-compartment model and validation of deuterium dilution technique to estimate fat-free mass in Mexican youth. *Nutrition* 2009; 25:194-199.
15. IDECG: The doubly-labelled water method for measuring energy expenditure. Technical recommendations for use in humans. A consensus report by the International Dietary Energy Consultancy Group. Edited by Prentice AM. Vienna: NAHRES-4, IAEA; 1990.
16. Bland JM, Altman DG. Applying the right statistics: analyses of measurement studies. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2003; 22:85-93.
17. Lin LI-K. A concordance correlation coefficient to evaluate reproducibility. *Biometrics* 1989; 45:255-268.
18. Lohman TG. Skinfolts and body density and their relation to body fatness: a review. *Hum Biol* 1981; 53:181-225.
19. Kuczmarski RJ, Ogden CL, Guo SS, Grummer-Straw LM, Flegal KM, Mei Z et al. 2000 CDC Growth Charts for the United States: Methods and development. *National Center for Health Statistics. Vital Health Stat* 11 2002; 246:147-148.
20. Haroun D, Wells JCK, Williams JE, 1, Fuller NJ, Fewtrell MS, Lawson MS. Composition of the fat-free mass in obese and nonobese children: matched case-control analices. *Int J Obes* 2005; 29:29-36.
21. Veldhuis JD, Roemmich JN, Richmond EJ, Rogol AD, Lovejoy JC, Sheffield-Moore M, et al. Endocrine control of body composition in infancy, childhood, and puberty. *Endocr Rev* 2005; 26:114-46.
22. Huang T T-K, Watkins MP, Goran MI, Predicting Total Body Fat from Anthropometry in Latino Children. *Obes Res* 2003; 11:1192-1199.

Recibido: 22-03-2010

Aceptado: 25-06-2010

Factores asociados al consumo de frutas y verduras en Bucaramanga, Colombia

*Edna Magaly Gamboa Delgado, Nahyr López Barbosa, Gloria Esperanza Prada Gómez,
José Tomás Franco Cadena, Ariel Landínez Navarro*

Departamento de Salud Pública, Escuela de Medicina, Universidad Industrial de Santander (UIS), Escuela de Nutrición y Dietética, UIS. Grupo de Investigación Observatorio Epidemiológico de Enfermedades Cardiovasculares (OEECV), Grupo de Investigación en Demografía, Salud Pública y Sistemas de Salud (GUINDESS). Colombia

RESUMEN. El objetivo del estudio fue determinar los factores asociados al consumo de Frutas y Verduras (FV) en población adulta de todos los niveles socioeconómicos (NSE), de Bucaramanga, Colombia. Se realizó un corte transversal analítico en una muestra de 317 personas y se midieron variables sociodemográficas, económicas, antropométricas, alimentarias y factores relacionados con la compra y consumo de FV. Se realizó una encuesta, un recordatorio de alimentos consumidos durante 24 horas últimas y toma de medidas antropométricas. Los tamaños de porción fueron estimados con un set de menaje estandarizado y atlas de fotografías de alimentos. Se establecieron frecuencias, medidas de tendencia central y dispersión y se usaron modelos de Regresión Logística para el análisis bi y multivariado. El consumo promedio de FV fue 162.6 g/día, (188.5 g en NSE alto y 145.7 g en NSE bajo; $p=0.056$). En promedio 2 porciones/día de FV (2.3 porciones en NSE alto y 1.5 en NSE bajo; $p=0.055$). La prevalencia de consumo adecuado de FV (más de 5 porciones/día) fue 8.6% (8.9% en NSE alto y 8.4% en NSE bajo; $p=0.896$). El factor asociado al consumo de FV fue $IMC \geq 25$ (OR: 0.31, IC(95%): 0.11-0.89; $p=0.030$), ajustado por ocupación, ingresos económicos, NSE y número de integrantes de la familia. El consumo de FV es bajo; el exceso de peso es la única variable asociada al no consumo de cinco o más porciones; causas: el costo para el consumo de frutas y el sabor en el caso de las verduras.

Palabras clave: Frutas, verduras, enfermedad crónica.

INTRODUCCION

El consumo de alimentos vegetales desempeña un papel fundamental en la prevención de las Enfermedades Crónicas no Transmisibles (ECNT) por su efecto protector contra algunos tipos de cáncer (1,2), enfermedades cardiovasculares (3,4) y diabetes (5).

Existe evidencia de que un consumo de Frutas y Verduras (FV) mínimo de 400 g al día disminuye el riesgo de enfermedades cardiovasculares (6). La carga atribuida a la enfermedad por el bajo consumo de FV en el 2002 fue de 85% para el grupo de cardiovasculares y de 15% para los cánceres (7). Desde el 2003, la Organización Mundial de la Salud (OMS) ha promocionado la Estrategia Mundial sobre

SUMMARY. Associated factors to dietary intake of fruits and vegetables in Bucaramanga, Colombia. The objective of this study was to determine associated factors to the consumption of fruit and vegetables (FV) in the adult population of each socioeconomic status (SES) in Bucaramanga, Colombia. We conducted a cross-sectional in a sample of 317 people and we measured socio-demographic, economic and anthropometric variables and dietary factors related to the purchase and consumption of FV. We made a survey, a 24-Hour dietary recall and we did anthropometric measurements. Portion sizes were estimated with a standardized set of utensils and food-photography atlas. Frequencies, measures of central tendency and dispersion were established and Logistic Regression models were used for the bi and multivariate analysis. Average consumption of FV was 162.6 g / day (188.5 g in high SES and 145.7 g in low SES, $p=0.056$). On average 2 servings per day of FV (2.3 servings in high SES and 1.5 in low SES, $p=0.055$). The prevalence of adequate intake of FV (more than 5 servings / day) was 8.6% (8.9% in high SES and 8.4% in low SES, $p=0.896$). The associated factor to consumption of FV was $BMI \geq 25$ (OR: 0.31, CI (95%): 0.11-0.89, $p=0.030$), adjusted for occupation, income, SES, and number of family members. FV consumption is low; excess weight is the only variable associated to no-consumption of five or more servings; causes: cost to the consumption of fruit and flavor in the case of vegetables.

Key words: Fruits, vegetables, chronic disease.

Régimen Alimentario, Actividad Física y Salud, ésta incluye un programa dirigido a promover un consumo mínimo de cinco porciones diarias de FV (7), equivalentes a 400g, sin embargo en países en vía de desarrollo el consumo medio es inferior a 100g (8, 9).

En Colombia, según la Encuesta Nacional de la Situación Nutricional del 2005, un 64.5% de la población consume frutas y 72.1% verduras y en Santander la proporción fue de 78.8% y 85.0% respectivamente (9). Otros estudios locales muestran un consumo de 82.8% tanto para frutas como para verduras (10), en población en condición de desplazamiento, corresponde a 16.6% y 15.0% respectivamente (11). Estas cifras corresponden a reportes de consumo diario de frutas y verduras, medido a través de R24H.

El consumo de una alimentación saludable, esta asociado entre otros factores, a la capacidad de compra (12), el precio y la disponibilidad (13,14), el tiempo, conocimiento de formas de preparación y acceso a elementos de preparación y conservación de alimentos (15).

Bucaramanga es la capital del Departamento de Santander y la quinta ciudad más importante de Colombia. Esta ubicada al nororiente del país sobre la Cordillera Oriental, a 959 msnm, cuenta con un área de 165 km² y su población, según el censo más reciente en 2005, es de 523.040 habitantes. El clima de la ciudad tiene temperaturas promedio entre 24° C y 30.9° C y el régimen de lluvias está distribuido en dos periodos secos y dos lluviosos.

El objetivo de este estudio fue determinar los factores asociados al consumo de frutas y verduras en población adulta de todos los niveles socioeconómicos (NSE) de la ciudad de Bucaramanga, Colombia.

MATERIALES Y METODOS

Durante 12 meses (Julio de 2006 a Julio de 2007) fue realizado un estudio de corte transversal analítico, en Bucaramanga, Santander, Colombia.

La población de este estudio corresponde a personas adultas, de ambos sexos, de todos los NSE de Bucaramanga.

En este estudio se incluyeron personas mayores de 18 años, que hubieran residido por un periodo mínimo de dos años en la ciudad de Bucaramanga y con capacidades físicas y mentales para responder una encuesta estructurada. Fueron excluidas aquellas personas que presentaran alguna patología que afectara su ingesta por vía oral, personas sin capacidad para comer por sí solas y mujeres embarazadas (según autoreporte).

Tamaño de muestra y muestreo

Se calculó un tamaño de muestra de 317 personas, teniendo en cuenta que la población a representar es de 523.040 habitantes, con una prevalencia esperada de consumo de verduras y frutas del 67% (reportado a través de un R24H), un nivel de confianza del 95%, poder de 80%, un error alfa de 0.05 y una precisión del 5%. Se utilizó muestreo multietápico en el cual, partiendo de un mapa de Bucaramanga -por estratos socioeconómicos-, se eligieron, al azar, barrios representativos de cada estrato (del 1 al 6, donde los estratos 1 y 2 corresponden a los niveles socioeconómicos bajo y medio bajo, 3 y 4 a los niveles medio y medio alto y 5 y 6 a los niveles alto y muy alto), luego se construyeron los croquis de estos barrios y se enumeraron las casas, las cuales fueron seleccionadas aleatoriamente para aplicar las encuestas. En cada casa seleccionada se realizó censo para escoger a una persona elegible; si había más de una persona que cumplía los criterios de inclusión en la casa, se seleccionó sólo una al azar mediante muestreo aleatorio simple.

Variables de interés

Se recolectó información acerca de las siguientes variables: *a.* características sociodemográficas y económicas (edad, sexo, estado civil, nivel de escolaridad, estrato socioeconómico, ingresos familiares mensuales, ocupación, horas laborales al día, número de integrantes de la familia y de menores de 7 años); *b.* antropométricas (peso, talla, Índice de Masa Corporal, IMC); *c.* Relacionadas con el estado de salud (presencia de ECNT); *d.* Dietéticas y alimentarias (dieta especial, frecuencia de compra de frutas y verduras, lugar de compra, lugar donde consumen los alimentos con mayor frecuencia, preferencias y motivos para el consumo de frutas y verduras); *e.* factores internos y externos que influyen en el consumo de frutas y verduras (familia, amigos, vecinos, medios de comunicación) y *f.* Recordatorio de 24 horas, R24H (alimentos consumidos por tiempo de comida, cantidad de frutas y verduras en medida casera y en gramos o en mililitros).

Procedimiento de recolección de información

Antes de recolectar la información, se realizó una prueba piloto (n=20) para medir el tiempo de diligenciamiento por encuesta e identificar dificultades en cuanto a la comprensión y redacción de las preguntas y se realizaron las correcciones pertinentes después de su aplicación.

La encuesta fue diligenciada mediante entrevista directa realizada por estudiantes de último semestre de Nutrición y Dietética.

La encuesta se realizó en la residencia de cada uno de los participantes seleccionados para la investigación y en ese momento se diligenció el formato, se aplicó el R24H y se tomaron las medidas antropométricas. El peso corporal se obtuvo utilizando básculas calibradas con sensibilidad de 100 g y la talla empleando tallímetros con sensibilidad de 1 mm; para tal fin se usaron las técnicas antropométricas estandarizadas para su medición y correspondiente interpretación.

Para la estimación de los tamaños de porción de los alimentos reportados en los R24H, cada encuestador contó con un set de menaje (vasos, platos, cucharas) que corresponde a cantidades (volúmenes y raciones) estandarizadas previamente y con un atlas de fotografías de porciones de tamaño real de diferentes alimentos, instrumentos estandarizados y elaborados por los investigadores y utilizados en otros estudios en la misma población.

Control de calidad de los datos

Los encuestadores fueron entrenados en cuanto al diligenciamiento de los formatos de recolección de la información, toma de medidas antropométricas y registro del R24H. Se elaboró una base de datos, en la cual la información fue digitada por duplicado y revisada con el módulo Validate del programa Epi Info v 6.04 d (16) para depurar los errores identificados.

Análisis de los datos

Los resultados fueron generados en el programa Stata v 8.2 (17) para obtener estadísticas univariadas, en las que se presentan las variables continuas con sus medidas de tendencia central y sus correspondientes medidas de dispersión y las variables categóricas como frecuencias y sus correspondientes Intervalos de Confianza del 95% (IC 95%).

Un análisis bivariado fue llevado a cabo entre el Consumo de Frutas y Verduras, y las demás variables de interés, mediante el cálculo de razones de riesgo relativas (OR) a través de Regresión Logística y sus respectivos IC 95%.

La comparación de las proporciones se realizó con la prueba de Chi cuadrado. Se obtuvieron razones de prevalencia, IC 95% y valores de p usando regresión logística bivariada.

Se realizó un análisis multivariado aplicando regresión logística ajustando prioritariamente por las variables detectadas en el proceso bivariado.

Consideraciones éticas

Se solicitó la firma del consentimiento informado a todos los participantes del estudio. De acuerdo con la Resolución

N° 08430 de 1993, del Ministerio de Salud de Colombia, este trabajo se clasifica como investigación sin riesgo para los participantes. Las personas encuestadas fueron identificadas con códigos respetando así la confidencialidad de los datos. Este estudio fue aprobado por el comité de ética de la Facultad de Salud de la Universidad Industrial de Santander.

RESULTADOS

Características sociodemográficas y económicas

El promedio de edad de la población de estudio fue 40.9 años, Desviación Estándar (DE) de 17.4 años; el 50.0% presentó una edad mayor de 38 años. El promedio de años de escolaridad fue 9.9 años, DE: 4.5 años. El 16.3% había terminado sus estudios de primaria y el 24.6% culminó sus estudios de secundaria. La muestra fue representativa según el estrato socioeconómico. Tabla 1.

En cuanto al estado civil de los participantes, 38.2% eran casados, el 34.4% solteros, 13.6% se encontraba en unión libre, 7.3% estaban separados y 6.6% eran viudos; sin diferencias estadísticamente significativas según el sexo ($p=0.148$).

TABLA 1
Características generales de la población de estudio

Característica	Total (317)	Hombres (87)	Mujeres (230)	p
Edad (años) *	40.9 (39.0 ; 42.9)	39.6 (35.8 ; 43.4)	41.4 (39.2 ; 43.7)	0.411
Años de escolaridad *	9.9 (9.4 ; 10.4)	10.7 (9.7 ; 11.6)	9.6 (9.0 ; 10.2)	0.076
Peso (kg) *††	65.3 (63.8 ; 66.8)	73.0 (70.2 ; 75.9)	62.4 (60.8 ; 64.0)	0.000
Talla (cm) *††	161.1 (160.1 ; 162.1)	170.8 (169.3 ; 172.3)	157.4 (156.6 ; 158.2)	0.000
Estado nutricional ‡††				0.271**
Bajo Peso (IMC <20)	41 {13.1}	9 {10.5}	32 {14.0}	
Normal (IMC 20-24)	129 {41.1}	39 {45.4}	90 {39.5}	
Sobrepeso (IMC 25-29)	94 {29.9}	29 {33.7}	65 {28.5}	
Obesidad (IMC ≥30)	50 {15.9}	9 {10.5}	41 {18.0}	
Estrato Socioeconómico ‡				0.020**
1	47 {14.8}	11 {12.6}	36 {15.6}	
2	79 {24.9}	12 {13.8}	67 {29.1}	
3	58 {18.3}	21 {24.1}	37 {16.1}	
4	52 {16.4}	19 {21.8}	33 {14.3}	
5	40 {12.6}	15 {17.2}	25 {10.9}	
6	41 {12.9}	9 {10.3}	32 {13.9}	

(n). * Promedio (Intervalo de confianza 95%); ‡ Frecuencia (%); |Prueba t de Student ; ** Prueba Chi2. †† n=314.

Las ocupaciones más comunes entre las mujeres fueron: ama de casa y estudiante (45.6% y 11.7% respectivamente) y entre los hombres, trabajos generales y estudiante (20.7% y 19.5% respectivamente), con diferencias estadísticamente significativas según el sexo ($p=0.000$).

El 27.7% de los encuestados tiene una jornada laboral de 8 horas al día. El promedio de horas laborales al día de los participantes fue 7 horas diarias, DE: 4.5 horas.

El 13.1% de los participantes del estudio reportó unos ingresos mensuales familiares entre \$ 100.000 y \$ 300.000 (\$

55 a \$ 167 USD), el 32.1% contaba con ingresos entre \$ 301.000 y \$ 600.000 (\$ 168 a 333 USD), el 21.2% recibía entre \$ 601.000 y \$ 900.000 (\$ 334 a \$ 500 USD) y el 33.7% mayores a \$ 900.000 (\$ 500 Dólares, USD). Las familias de los encuestados estaban conformadas, en promedio, por 4.4 integrantes, DE: 1.8 integrantes; el 18.0% por cinco personas y el 23.3% por 6 a 11 personas.

El 26.5% de las familias tenía un menor de siete años de edad en el hogar.

Características antropométricas

En la Tabla 1 se presentan los resultados de algunas características antropométricas según el sexo. El promedio de peso de los encuestados fue 65.3 kg, DE: 13.4 kg y la talla promedio fue 161.1 cm, DE: 8.8 cm, encontrándose diferencias estadísticamente significativas para las dos variables, según el sexo ($p=0.000$). Para la talla se encontraron diferencias estadísticamente significativas, según el NSE ($p=0.018$).

El estado nutricional fue clasificado de acuerdo con el IMC y se encontró 29.6% de Sobrepeso y 16.7% de Obesidad, sin diferencias estadísticamente significativas por sexo ($p=0.208$). El promedio de IMC fue 25.2, DE: 4.9. Se hallaron diferencias significativas para el IMC, según NSE ($p=0.004$).

Características de salud de los participantes

Se indagó acerca de la presencia de algunas ECNT, para lo cual se hallaron las prevalencias de Hipertensión Arterial, Obesidad, Sobrepeso y Dislipidemias (según autoreporte de los encuestados). La Tabla 2 presenta las prevalencias de estas enfermedades. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas, según el NSE, para la presencia de Hipertensión Arterial ($p=0.006$), Hipercolesterolemia ($p=0.005$) e Hipertrigliceridemia ($p=0.012$).

TABLA 2
Enfermedades Crónicas No Transmisibles reportadas por los encuestados

Enfermedad	Total (317) *	Hombres (87) *	Mujeres (230) *	P ‡
Obesidad	39 (12.3)	5 (5.7)	34 (14.8)	0.029
Hipertensión arterial	52 (16.4)	13 (14.9)	39 (16.9)	0.666
Hipercolesterolemia	38 (11.9)	5 (5.7)	33 (14.3)	0.035
Hipertrigliceridemia	26 (8.2)	3 (3.4)	23 (10.0)	0.058
Diabetes mellitus	20 (6.3)	5 (5.7)	15 (6.5)	0.800
Enfermedad cardiovascular	13 (4.1)	7 (8.0)	6 (2.6)	0.029

(n). * Frecuencia (%); ‡ Prueba Chi2.

Características del consumo de alimentos

Sobre el lugar donde los participantes del estudio consumen con mayor frecuencia los alimentos, se encontró que un 89.6% lo hace en el hogar, 6.9% en restaurantes y 3.5% en otros lugares.

Como una aproximación a la percepción sobre seguridad alimentaria de los encuestados, un 14.5% manifestó que considera que no puede comprar los alimentos que su cuerpo necesita. El 78.6% de personas de NSE bajo (estratos 1 y 2), 85.5% del medio (estratos 3 y 4) y 96.3% del alto (estratos 5 y 6), consideran que sí pueden comprar los alimentos necesarios, con diferencias significativas ($p=0.002$).

En cuanto a las preferencias de los entrevistados, el 98.4% afirmó que le gusta las frutas y el 86.1% las verduras. Dentro del grupo de personas que no consumen frutas (5.4%), se encontró como principal motivo el precio (56.2%), el sabor (12.5%) y otros motivos (31.2%). La ausencia del consumo de verduras fue reportada por el 8.2% de los participantes, debido al sabor 64.0%, precio 16% y tiempo 12.0%.

Dentro del grupo de familias que consumen las FV, se encontraron diferencias estadísticamente significativas para el factor externo que más influye en el consumo actual de frutas según NSE ($p=0.000$), siendo los más influyentes, la familia (74.3% en el NSE alto y 54.7% en el NSE bajo), los medios impresos (20% para NSE alto) y la televisión (29.3% para NSE bajo).

De manera similar, se hallaron diferencias significativas para los factores externos que influyen en el consumo de verduras según NSE ($p=0.001$), donde los más influyentes fueron la familia (en el 70.4% de NSE alto y 58.7% de NSE bajo), los medios impresos (en el 18.5% de NSE alto) y la televisión (en el 32.0% de NSE bajo).

Respecto al precio de las frutas y verduras, un 45.5% y 55.0% de los entrevistados lo considera normal, 43.0% y 28.4% costoso y un 11.5% y 16.6% barato, encontrándose diferencias estadísticamente significativas según el NSE ($p=0.006$). El 49.7% de los encuestados de NSE bajo, considera que el precio de las frutas es costoso, en comparación con el 33.6% de NSE alto que opina igual ($p=0.015$). Con relación a las verduras, según NSE no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la percepción de su precio (32.4% del NSE bajo y 22.9% del NSE alto las consideran costosas).

La frecuencia y lugar de compra de las frutas y las verduras, según el NSE, se presenta en la Tabla 3. Se encontraron diferencias significativas para la frecuencia y el lugar de compra de las FV ($p=0.021$ y $p=0.000$ respectivamente).

Para evaluar otros aspectos que pueden influir en el consumo de FV, se preguntó si contaban con ciertos electrodomésticos en el hogar, un 95.3% de encuestados manifestó tener licuadora: 100% del NSE alto, 97.3% del nivel medio y 90.5% del bajo, ($p=0.003$). Un 91.8% tenía nevera, 100% del NSE alto, 93.7% del nivel medio y 84.9% del bajo ($p=0.000$).

Consumo de frutas y verduras

Según el recordatorio de 24 horas utilizado, los participantes consumen 162.6 g de FV en promedio (188.5 g en NSE alto y 145.7 g en NSE bajo; $p=0.056$).

En términos de cantidad de porciones, los encuestados consumen 2 porciones de FV al día (2.3 porciones en NSE alto y 1.5 porciones en NSE bajo; $p=0.055$).

La prevalencia de consumo adecuado de FV estimado como 5 o más porciones diarias, fue 8.6% (8.9% en NSE alto

y 8.4% en NSE bajo; $p=0.896$) y expresado como 400 g o más de FV al día, fue 6.3% (9.9% en NSE alto y 3.9% en NSE bajo; $p=0.053$).

Entre las personas que tenían consumos diarios adecuados de FV, el 68.2% eran personas con IMC < 25 y el 31.8% correspondía a personas con IMC > 25.

TABLA 3
Frecuencia y lugar de compra de frutas y verduras

Características relacionadas con la compra	Total	Frutas *			Total	Verduras *		
		Nivel socioeconómico				Nivel socioeconómico		
		Bajo	Medio	Alto		Bajo	Medio	Alto
Frecuencia de compra								
Diaria	126 (39.7)	52 (41.3)	55 (50.0)	19(23.5)	124 (39.1)	61(48.4)	48(43.6)	15 (18.5)
Semanal	127 (40.1)	47 (37.3)	37 (33.6)	43(53.1)	133 (41.9)	42(33.3)	44(40.0)	47 (58.0)
Quincenal	34 (10.7)	12 (39.5)	10 (9.1)	12(14.8)	28 (8.8)	8 (6.3)	9 (8.2)	11 (13.6)
Mensual	14 (4.4)	8 (6.3)	2 (1.8)	4 (4.9)	13 (4.1)	4 (3.2)	3 (2.7)	6 (7.4)
Lugar de compra								
Puestos ambulantes	18 (5.7)	6 (4.8)	9 (8.3)	3 (3.7)	11 (3.5)	6 (4.7)	2 (3.7)	3 (1.2)
Tiendas	49 (15.5)	36 (28.6)	7 (6.4)	6 (7.4)	48 (15.2)	34(26.9)	8 (7.3)	6 (7.4)
Micromercado	18 (5.7)	5 (3.9)	7 (6.4)	6 (7.4)	14 (4.4)	4 (3.2)	6 (5.5)	4 (4.9)
Supermercado	34 (10.7)	7 (5.6)	7 (6.4)	20(24.7)	32 (10.1)	5 (3.9)	7 (6.4)	20 (24.7)
Plaza de mercado	189 (59.8)	70 (55.6)	74 (67.9)	45(55.6)	204 (64.5)	73(57.9)	81(74.3)	50 (61.7)

* Frecuencia: n (%)

Las preparaciones de frutas más frecuentemente consumidas son: jugos (70.0%) y frutas enteras (25.5%) y de verduras: guisos (45.8%) y ensaladas (37.5%).

Factores asociados con el consumo de frutas y verduras

El análisis bivariado mostró como variable asociada al consumo adecuado de FV al IMC (OR: 0.39, IC(95%): 0.15-1.01; $p=0.054$), lo cual indica que tener IMC de 25 o más disminuye la probabilidad de consumir estos grupos de alimentos en la cantidad recomendada. (Tabla 4).

Después de realizar un análisis multivariado, el consumo adecuado de FV se mantuvo asociado con el IMC, ajustando por ocupación, ingresos económicos, NSE y número de integrantes de la familia (OR: 0.31, IC(95%): 0.11-0.89; $p=0.030$).

DISCUSION

El consumo promedio de FV en la población estudiada, no alcanza a cubrir la recomendación establecida (7), esta situación ha sido reportada en otros estudios en países en desarrollo (6, 18-20). Sólo el 8.6% de los participantes consumía las 5 o más porciones diarias de FV recomendadas, otro estudio realizado en la región, mostró que menos del 3.0% de la población consumía esta recomendación (21).

La anterior situación justifica el interés de la OMS y otras organizaciones por promocionar el consumo de FV y evidencia la necesidad de continuar implementando programas con este propósito. Actualmente en la región se vienen adelantando

proyectos educativos que han logrado impactar positivamente el consumo de FV en la población escolar (10,21).

Los resultados de este estudio muestran como la única variable asociada al consumo inadecuado de FV fue el exceso de peso, ajustando por ocupación, estrato, ingresos y tamaño familiar. Esta situación es preocupante teniendo en cuenta que la obesidad es un factor de riesgo para las ECNT y que el consumo de FV dadas sus propiedades nutricionales es justamente una forma de prevención (6,7). En el 2005 en Colombia el 46.0% de la población de 18 a 64 años presentó exceso de peso (9) y en este estudio este evento se presentó en el 46.3%. La situación es aún más preocupante si se tiene en cuenta que el no consumo de FV se presentó en el 5.4% y 8.2% de la población; otros estudios locales muestran una proporción de 17.2% para los dos grupos de alimentos (10) y de 57.6% para frutas y 41.1% para verduras (21).

Un determinante de la calidad de la dieta y del consumo de FV es el NSE, en familias con NSE bajo existe un deficiente consumo de FV, de alimentos fuentes de proteínas y en general de la calidad de la dieta. Los resultados muestran un consumo menor en el NSE bajo, aunque las diferencias no alcanzaron a ser significativas ($p= 0.056$). De esta manera, los resultados indican que el consumo de FV es bajo independiente del NSE.

Como factores causales de la calidad de la dieta, otros estudios han reportado la capacidad de compra, el precio de los alimentos (22-24) y el acceso a electrodomésticos para la preparación y conservación (25).

TABLA 4
Factores que influyen en el consumo adecuado de frutas y verduras (400 gramos o más al día) en Bucaramanga, Colombia, 2007

Variable	Razón de prevalencia *	IC95% * ‡	Valor p *
Edad actual (años)			
Mayor de 25	1.00		
Menor o igual a 25	2.29	0.65 ; 8.02	0.193
Sexo			
Femenino	1.00		
Masculino	0.62	0.24 ; 1.55	0.308
Estrato Socioeconómico			
4, 5 o 6	1.00		
1, 2 o 3	1.06	0.43 ; 2.58	0.896
Estado civil			
Casado, separado, viudo, Unión libre	1.00		
Soltero	2.44	0.80 ; 7.46	0.117
Ocupación			
Profesional	1.00		
Otras	1.88	0.50 ; 6.98	0.342
Escolaridad (años)			
5 o más	1.00		
Menos de 5	0.60	0.16 ; 2.20	0.442
Ingresos			
Más de \$600.000	1.00		
\$600.000 o menos	0.89	0.35 ; 2.22	0.809
Número de integrantes de la familia			
Tres o menos	1.00		
Más de tres	1.38	0.55 ; 3.45	0.483
IMC			
Menor de 25	1.00		
25 o más	0.39	0.15 ; 1.01	0.054
Lugar usual de ingesta de alimentos			
Casa	1.00		
Restaurante/Otros	0.56	0.15 ; 2.07	0.387
Lugar de compra de las verduras			
Micro/Supermercado, Plaza de mercado	1.00		
Puestos ambulantes o tiendas	2.14	0.48 ; 9.54	0.316
Lugar de compra de las frutas			
Micro/Supermercado, Plaza de mercado, Ambulantes	1.00		
Tiendas	2.34	0.52 ; 10.38	0.263

* Cálculo realizado con regresión logística; análisis bivariado

‡ IC95%: intervalo de confianza al 95%

Como causas específicas del inadecuado consumo de frutas, el precio fue la principal limitante, además del acceso a los equipos de preparación, factores reportados en otros estu-

dios (10,15,21), los elementos para la preparación son importantes porque la principal forma de consumo es el jugo (10,13,15,26), éste requiere de licuadora o juguera y no siempre está disponible en los hogares de NSE bajo, lo anterior genera un incremento del consumo de “refrescos azucarados instantáneos”; que además requieren de poco tiempo para su preparación (10,15). Se encontraron diferencias significativas entre la disponibilidad de equipos y el NSE. Las causas del inadecuado consumo de verduras son similares a otros reportes: el sabor, la falta de tiempo y el desconocimiento de formas de preparación para las verduras (10,15,21).

Otro factor determinante del consumo de FV es la capacidad de compra, los hallazgos muestran diferencias significantes entre el NSE, la frecuencia y lugar de compra; el NSE bajo compra de manera diaria y semanal y el sitio preferido es la tienda o micromercado al igual que en otros estudios, probablemente debido a la cercanía al hogar, facilidad de acceder a crédito, ofrecimiento fraccionado de venta y a la relación social que se genera en los micromercados o tiendas (11,24).

Un elemento poco explorado y que tiene gran relación con la calidad de la dieta es el tiempo requerido para la preparación de alimentos (10,13,15,21). Aunque el consumo de alimentos fuera del hogar se presentó en el 10.4% de las familias, los estudios muestran que en esos casos la calidad de la dieta queda condicionada a lo ofrecido por los restaurantes y en algunos casos a las preparaciones que realizan en el hogar para llevar a los sitios de trabajo (15), en ese caso optan por formas “sencillas”, sin importar el valor nutricional, esta situación se da principalmente en el NSE bajo (15). Actualmente se han implementado campañas dirigidas al NSE medio y alto para que los supermercados ofrezcan preparaciones listas para el consumo (13), esto no es posible en grupos con limitaciones de ingreso que son una gran mayoría en los países en vías de desarrollo (15,22-24).

Divulgar formas de preparación para las verduras es la sugerencia que muchos grupos de población proponen para lograr incrementar su ingesta, debido a que una de las principales causas de su bajo consumo es que las personas perciben como desagradable su sabor (10,13,15,21). Las estrategias que se han desarrollado en la región, han puntualizado este aspecto con logros positivos que han sido monitoreados en las evaluaciones de impacto realizadas (10, 21).

Nuestros hallazgos permiten concluir en primer lugar, que el exceso de peso es la única variable asociada al no consumo de cinco o más porciones de verduras y en segundo lugar, las causas del inadecuado consumo de FV corresponden al costo para el consumo de frutas y al sabor en el caso de las verduras, similares a las reportadas en otras investigaciones. Entre las recomendaciones a tener en cuenta están: 1-Implementar programas de educación nutricional dirigidos a las personas con exceso de peso, 2-Orientar estos programas hacia la pro-

moción de las formas de preparación de V, 3-Utilizar la familia como principal canal de implementación de los programas y 4-Desarrollar una política para mejorar el acceso a las FV, principalmente en cuanto a la regulación de precios.

REFERENCIAS

- Persky V, Van Horn L. Epidemiology of soy and cancer: perspectives and directions. *J Nutr* 1995;125 Supl 3:709-712.
- Aldercruz H. Phytoestrogens: Epidemiology and a possible role in cancer protection. *Environ Health Perspect* 1995; 103 Suppl 7:103-112.
- Kingman S M. The influence of legume seeds on human plasma lipid concentrations. *Nutr Res Rev* 1991; 4(1):97-123.
- Zulet MA, Martínez JA. Corrective role of chickpea intake on a dietary-induced model of hypercholesterolemia. *Plant Foods Hum Nutr* 1995; 48:269-277.
- Indar Brown K, Noreberg C, Madar Z. Glycemic and insulinemic responses after ingestion of ethnic foods by NIDDM and healthy subjects. *Am J Clin Nutr* 1992; 55(1): 89-95.
- World Health Organization (WHO). Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases: Report of a joint WHO/FAO Expert Consultation. WHO Technical Report series, No. 916. Geneva; 2003.
- World Health Organization (WHO). Global strategy on diet, physical activity and health. Mayo 2004. URL disponible en: <http://www.who.int/dietphysicalactivity/en/>. Fecha de acceso: Octubre 15 de 2005.
- Williams C. Healthy eating: clarifying advice on fruit and vegetable consumption. *BMJ* 1995; 310(6992): 1453-1455.
- Instituto Colombiano de Bienestar Familiar (ICBF). Encuesta nacional de la situación nutricional en Colombia. Bogotá: Imprenta Nacional de Colombia; 2006.
- Prada GE, Dubeibe LY, Herrán OF, Herrera M. Evaluación del impacto de un ensayo comunitario sobre el consumo de frutas y verduras en Colombia. *Salud pública de México* 2007; 49(1):11-19.
- Prada GE, Herrán OF, Ortiz R. Patrón alimentario y acceso a los alimentos en familias desplazadas en el municipio de Girón, Santander, Colombia. *Rev Panam Salud Publica* 2008; 23(4): 257-263.
- Torres F, Trápaga Y, Delgado J, Ocegüera D, Zamora J, García JC, et al. La alimentación de los mexicanos en la alborada del tercer milenio. México: IIEC- UNAM; 2004.
- Anderson AS, Cox DN et al. (1998). Take Five, a nutrition education intervention to increase fruit and vegetable intakes: impact on attitudes towards dietary change. *Br J Nutr* 1998; 80(2): 133-40.
- Cullen KW, Bartholomew LL, Parcel GS. Girl scouting: An effective channel for nutrition education. *J Nutr Educ* 1997; 29: 86-91.
- Prada GE, Gamboa EM, Jaime ML. Representaciones sociales sobre alimentación saludable en población vulnerable. Bucaramanga, Santander. Colombia. *Salud UIS* 2006; 38(3):181-188
- CDC/WHO. Epi Info, versión 6.04d. Epidemiología en ordenadores. Atlanta, Georgia; Enero 2001.
- Stata Corp. Stata Statistical Software: Release 8.2. College Station, TX: Stata Corporation; 2003.
- Herrán OF, Prada GE, Quintero DC. Ingesta usual de vitaminas y minerales en Bucaramanga, Colombia. *Rev. chil. nutr* 2007; 34(1): 35-44.
- Herrán OF, Prada GE. Situación alimentaria en mujeres de dos municipios Santandereanos. *Salud UIS* 2001; 33:134-141.
- Prada GE., Alvarez A. Caracterización de la situación alimentaria en tres municipios de Santander: Vélez, Charalá, Floridablanca. Secretaría de Salud de Santander. Universidad Industrial de Santander. Escuela de Nutrición. Informe de investigación. Bucaramanga, Colombia. 2002.
- Prada GE, Herrán OF. Impacto de estrategias para aumentar el consumo de frutas y verduras en Colombia. *Rev. chil. Nutr* 2009; 36(4):1080-1089.
- Prada GE, Herrán OF. Alimentos índices: Comportamiento de los precios en Santander, 1999-2000. *Salud UIS* 2003; 35:3-10.
- Herrán-Falla OF, Prada-Gómez GE, Patiño-Benavides GA. Canasta básica alimentaria e índice de precios en Santander, Colombia, 1999-2000. *Salud pública de México* 2003; 45:35-42.
- Prada GE, Herrán OF. Calidad de la dieta en mujeres con condición de desplazamiento forzado. Colombia, 2004. *Rev. chil nutr* 2006; 33(1): 22-30.
- Prada GE, Soto A, Herrán OF. Consumo de leguminosas secas en el departamento de Santander. Colombia. 2002-2003. *ALAN* 2005; 55(1): 64-70.
- Cox DN, Anderson AS, Reynolds J, McKellar S, Lean MEJ, Mela DJ. Take Five, a nutrition education intervention to increase fruit and vegetable intake: impact on consumer choice and nutrient intakes. *Br J Nutr* 1998; 80 (2): 123-31.

Recibido: 01-07-2010

Aceptado: 06-09-2010

DetECCIÓN DE *Listeria monocytogenes* EN QUESO BLANCO CRIOLLO, MEDIANTE LA REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR)

Luis Guillermo Ramírez Mérida, Alba Morón de Salim, Ana Yudith Alfieri Graterol, Orlando Gamboa

Departamento de Biología, Departamento de Bioquímica, Facultad de Ciencias y Tecnología (FACYT), Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias de la Salud Universidad de Carabobo Sede Valencia, Departamento de Ciencias de los Alimentos, Facultad de Ingeniería de Alimentos, Canoabo, Universidad Simón Rodríguez. Venezuela

RESUMEN. La reacción en cadena de la polimerasa, conocida como PCR, es un método que permite replicar miles de veces, en pocas horas e in vitro, pequeñas cantidades de ADN. La aplicación de métodos rápidos y sensibles, para detectar *Listeria monocytogenes* en muestras de queso blanco, permitirá un mejor control microbiológico del proceso de producción. Se aplicó PCR a 30 muestras de queso blanco, de una quesera de Valencia Estado Carabobo. Se detectó especificidad y sensibilidad para PCR mediante el empleo de la cepa control *Listeria monocytogenes* 446. Extracción de ADN según metodología descrita por Torres y col., Marcador de peso molecular de 100 pares de base. Se emplearon: cuatro cebadores del gen *hlyA* de listeriolisina O; iniciadores L1/U1 para banda 938 pb y LF/LR para banda 750 pb del gen *hlyA*. Estadístico EpiInfo V6 para concordancia de observaciones en geles, mediante coeficiente Kappa (K). Resultados: 8 de las 30 muestras de queso analizadas, mostraron crecimiento presuntivo de *Listeria spp* en Agar PALCAM. De las cuales 2 de las muestras no pertenecían al género *Listeria*; en las 6 restantes las pruebas de confirmación arrojaron que: 2 eran *L. monocytogenes*, 3 *L. ivanovii* y 1 *L. seeligeri*. Mediante PCR 2 muestras resultaron positivas para *L. monocytogenes* al amplificar la banda 938 pb para *Listeria* y banda 750 pb para la especie *monocytogenes*. Se concluye que PCR demostró ser altamente específico y sensible para *L. monocytogenes*, teniendo ventaja sobre agar PALCAM al evidenciar la presencia específica del patógeno en un tiempo relativamente corto.

Palabras clave: Reacción en cadena de la polimerasa, sensibilidad, control microbiológico, *Listeria monocytogenes*, queso blanco fresco.

INTRODUCCION

El queso blanco fresco es uno de los productos lácteos más comúnmente consumido en la dieta del venezolano; es elaborado a partir de leche de vaca cruda siguiendo esquemas artesanales empíricos, no estandarizados, lo que, aunado a la pobre calidad sanitaria, distribución y comercialización, no sujeta a controles, almacenamiento sin refrigeración o refrigeración no controlada lo convierten en un potencial vehículo para la transmisión de importantes patógenos. El queso fresco es especialmente vulnerable a contaminación con *Listeria*, debido a su alto contenido de humedad, alta disponibilidad de nutrientes, concentración de sal de 1-3% y especialmente,

SUMMARY. Detection of *Listeria monocytogenes* in white cheese by Polymerase Chain Reaction (PCR). The Polymerase Chain Reaction, known as PCR, is a method to replicate thousands of times within a few hours and in vitro, small amounts of DNA. The application of rapid and sensitive methods to detect *Listeria monocytogenes* in cheese samples, allow a better microbiological control of the production process. PCR was applied to 30 samples of white cheese, from Valencia, Carabobo State. It was detected PCR specificity and sensitivity by using the control strain *Listeria monocytogenes* 446. DNA extraction according to the methodology described by Torres et al., Molecular weight marker 100 base pairs. Were used: four primers *hlyA* gene of listeriolysin O; L1/U1 primers for 938 bp band and LF / LR 750 bp band *hlyA* gene. EpiInfo Statistical V6 to match observations in gels, by Kappa coefficient (K). Results: 8 out of 30 cheese samples analyzed showed presumptive growth of *Listeria spp* in PALCAM Agar. Two of the samples not belonged to the genus *Listeria*, in the 6 remaining sample confirmation tests showed that: 2 were *L. monocytogenes*, 3 *L. ivanovii* and 1 *L. seeligeri*. In PCR 2 samples were positive for *L. monocytogenes* by amplify the 938 bp band for *Listeria* and 750 bp band for the species *monocytogenes*. We concluded that PCR was highly specific and sensitive to *L. monocytogenes*, taking advantage of PALCAM agar to detect the presence of the pathogen species a relatively short time.

Key words: Polymerase chain reaction, sensibility, microbiological control, *Listeria monocytogenes*, fresh white cheese.

el hecho de que se consume sin recibir ningún tratamiento térmico (1). El queso blanco fresco, ha sido considerado uno de los vehículos principales de entrada de *L. monocytogenes* al organismo humano, por ser consumido sin tratamiento bactericida previo y conservado por periodos prolongados a temperatura de refrigeración (2,3); siendo los grupos poblacionales más susceptibles a la contaminación y padecer la enfermedad por este patógeno, aquéllos que tienen disminuida la inmunidad celular, entre ellos están los recién nacidos, mujeres embarazadas y ancianos (4).

Generalmente en la industria de alimentos la identificación de *L. monocytogenes* se realiza por métodos microbiológicos tradicionales que requieren de un mínimo de

5 días para declarar si un alimento está libre de *Listeria* y de 10 días adicionales para reconocer la especie *monocytogenes* (5). Estos métodos no permiten tomar decisiones rápidas, causando incrementos en el costo del producto final por concepto de cuarentena, antes de su liberación. De allí, que se busque la aplicación de métodos rápidos y sensibles como lo es el de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) (6), que permita detectar el patógeno en muestras de alimentos, de una manera eficaz y rápida; lo que accedería a llevar un control más eficiente del proceso de producción y tomar decisiones a corto plazo.

El objetivo del presente trabajo fue emplear el método de PCR para la detección de *L. monocytogenes* en muestras de queso blanco criollo provenientes de una quesera ubicada en Valencia, Estado Carabobo.

MATERIALES Y METODOS

Muestras

Las muestras de queso (30 en total, de 250 gr c/u) fueron adquiridas directamente de una quesera ubicada en Valencia Estado Carabobo. Las mismas se colocaron en bolsas plásticas y transportadas en cavas con hielo hasta el laboratorio, donde fueron procesadas o conservadas bajo refrigeración hasta su procesamiento dentro de las 48 horas siguientes a su adquisición.

Cepas control

Para medir la especificidad de PCR y detectar los diferentes géneros y especies, se emplearon 8 cepas control integradas por: 3 de *Listeria monocytogenes*, 1 de *Listeria ivanovii*, 1 de *Listeria seeligeri*, 1 de *Staphylococcus aureus*, 1 *Escherichia coli* y 1 de *Streptococcus bovis*. La procedencia y tipo de cepas se presentan en el Cuadro 1.

Cuadro 1
Cepas de microorganismos usados en el estudio

Nº	Cepa	Procedencia
1	<i>Listeria monocytogenes</i> 446	Centro Venezolano de Colección de Microorganismos
2	<i>Listeria monocytogenes</i>	Aislada de atún (Colección UDO)
3	<i>Listeria monocytogenes</i>	Aislada de cilantro (Colección de Laboratorio Microbiología UC)
4	<i>Listeria ivanovii</i>	Aislada de cilantro (Colección de Laboratorio Microbiología UC)
5	<i>Listeria seeligeri</i>	Aislada de cilantro (Colección de Laboratorio Microbiología UC)
6	<i>Staphylococcus aureus</i> 718	Centro Venezolano de Colección de Microorganismos
7	<i>Escherichia coli</i> 304	Centro Venezolano de Colección de Microorganismos
8	<i>Streptococcus bovis</i> 648	Centro Venezolano de Colección de Microorganismos

Técnicas y procedimientos

La preparación de las muestras, identificación y confirmación de las cepas, se realizó usando una modificación a la metodología recomendada por COVENIN N° 3718:2001 (7).

Preparación de las muestras

Procedimiento: Muestras de queso blanco

De los 250 gramos de queso blanco adquiridos, se pesaron 25 gramos extraídos de diferentes partes de la muestra, los mismos fueron macerados asépticamente, para luego tomar un gramo (1g) de este macerado y colocarlo en un tubo que contenía 9 mL de caldo soya tripticasa con 0,6% de extracto de levadura, de tal forma que se mantuvo la relación 1:10 según la Norma COVENIN (8). Se incubó por 4h a 30°C, como medida de pre-enriquecimiento; transcurrido este tiempo se le añadieron los agentes selectivos acriflavina HCl, ácido malidíxico y cliclohexamida mezclándose por agitación y se continuó incubando por 12 horas a 37°C fin de obtener el crecimiento óptimo de microorganismos COVENIN (7) (esto se realizó para cada una de las 30 muestras). Finalizado el

tiempo de incubación, se inoculó 0,1 mL, de la mezcla previa, en agar PALCAM por la técnica de difusión en agar con la espátula de Drigalski, se incubó a 37°C y se observó a las 24, 48 y 72 horas, para evidenciar el crecimiento del microorganismo. Las placas que mostraron colonias con características morfológicas similares a *Listeria*, se catalogaron como “*Listeria* presuntiva”, y las que no como “negativas”.

Identificación y confirmación de las cepas

Usando la identificación morfológica de las colonias que crecieron en agar PALCAM, se inocularon las colonias típicas del microorganismo, por estriación con asa de platino en placas de Agar Tripticasa Soya con 0,6% de extracto de levadura, incubándose a 37°C por 48 horas, a partir de este cultivo se realizaron: coloración de gram, prueba de movilidad en medio SIM, motilidad en lámina escavada, prueba de hemólisis en agar sangre, prueba de CAMP, prueba de catalasa y el esquema de identificación bioquímica con las pruebas de fermentación de ramnosa, xilosa, manitol, TSI (lactosa, sacarosa, glucosa) y la prueba de bilis esculina, para la identificación y confirmación de *Listeria* spp.

Control

Estuvo conformado por cepas individuales y por un pool de mezcla de dos o más cepas control. Cada cepa y cada pool de cepas, fue colocado individualmente en un tubo con 9 mL de caldo soya tripticasa con 0,6% de extracto de levadura, incubándose por 12 horas a 37°C, para obtener el crecimiento óptimo.

Extracción de ADN del cultivo de muestras de queso y cepas control

Se siguió la metodología descrita por Torres y col., (4) para ello, de las muestras previamente incubadas, se tomó 1 mL del cultivo y se centrifugó por 10 minutos a 4000 rpm. Las células obtenidas (pellet) fueron lavadas con solución tampón TE 1X (Tris-HCl 10 mM, EDTA 1 mM, pH 8,0 +/-0,2); para la lisis celular, el pellet fue resuspendido en 200 µL de tampón TE 1X más 2 mg/mL de lisozima incubándose por 30 minutos a 37°C. Seguidamente se añadieron 300 µL de tampón TE 1X con 1% (p/v) de SDS y proteinasa K hasta una concentración final de 100 µg/mL, la mezcla se incubó a 65°C por 1 hora. Luego de la incubación se adicionaron 84 µL de solución de NaCl 5M y 60 µL de Cetyltrimetil Bromuro de Amonio (CTAB) al 10% (p/v) disuelto en NaCl 0,7M; posteriormente se incubó por 20 minutos a 65°C. La suspensión resultante se trató con una mezcla 24:1 de fenol-cloroformo. Una vez separadas las fases por centrifugación, la fase acuosa se trató con 2-propanol para lograr la precipitación del ADN. El ADN precipitado se lavó con etanol al 70% (v/v) se secó a 37°C y se resuspendió en tampón TE 1X.

Determinación de la especificidad y sensibilidad de la PCR

Para evaluar la especificidad de la prueba de PCR, se corrieron muestras controles empleando diferentes tubos de caldo soya tripticasa con 0,6% de extracto de levadura. Los tubos fueron inoculados de la siguiente manera: (i) *Listeria monocytogenes* CVCM 446, (ii) *Listeria monocytogenes* UC, (iii) *Listeria monocytogenes* UC, (iv) *Listeria ivanovii* UC, (v) *Listeria seeligeri* UC, (vi) *Escherichia coli* CVCM 304, (vii) *Staphylococcus aureus* CVCM 718, (viii) pool de muestras de *Listeria monocytogenes* CVCM 446, *Streptococcus bovis* CVCM 648, *Escherichia coli* CVCM 304, *Staphylococcus aureus* CVCM 718, (ix) *Listeria monocytogenes* con concentración conocida (100 UFC/mL), (x) Pool de muestra de *Streptococcus bovis* CVCM 648, *Escherichia coli* CVCM 304, *Staphylococcus aureus* CVCM 718. El marcador de peso molecular empleado fue de 100 pares de base (Gibco BRL).

Para verificar la sensibilidad del PCR, se inocularon colonias de *Listeria monocytogenes* 446 en placas de Agar PALCAM incubándose a 37 °C por 24 horas. Se tomaron colonias y se colocaron un tubo de caldo soya tripticasa para obtener una dilución 1:2 a partir de ésta se realizaron dilucio-

nes seriadas de 1:4, 1:8, 1:16 y 1:32 incubándose todas ellas a 37 °C por 24 horas. Transcurrido este tiempo se procedió al ensayo de PCR.

Reacción de PCR

Siguiendo las metodologías (9-11) para la PCR, se emplearon cuatro cebadores basados en la secuencia del gen *hlyA* de la listeriolisina O (Roche, Mannheim, Germany).

L1 (CTCCATAAAGGTGACCCT),
U1 (CAGCMGCCGCGGTAATWC),
LF (CAAACGTTAACAACGCAGTA)
LR (TCCAGAGTGATCGATGTAA)

El volumen final para la reacción de PCR fue de 30 mL, esta mezcla contenía buffer para PCR 1X; 2,5 mM de MgCl₂; 0,2 mM de cada dNTP; 20 pmol de cada cebador y 2U de *Taq* – ADN polimerasa (Promega, Madison, USA), y 3 mL de ADN-muestra. Se empleó un termociclador BIORAD Gene Cyclyer™ 2400 programado de la siguiente manera: 1 minuto a 95°C, seguidos de 30 ciclos de 30 segundos a 94°C, 20 segundos a 51°C, 30 segundos a 74°C y un paso final de extensión de 8 minutos a 74°C.

La especificidad de los iniciadores L1/U1 que amplifican la banda de 938 pb (identificación de género) es característica del ADN_r 16S y los iniciadores LF/LR que amplifican la banda de 750 pb es característica del gen *hlyA* (identificación de especie) (9).

Separación electroforética

Este procedimiento, permitió evidenciar las bandas correspondientes al gen de listeriolisina O, que pertenece a *Listeria monocytogenes*. Los productos de PCR y los de ADN obtenidos en las extracciones fueron visualizados en geles de agarosa al 1% (p/v) en tampón TAE 1X (Tris-acetato 40mM, EDTA 1 mM, pH 8 +/-0,2), teñidos con 0,2 µg/mL de bromuro de etidio, corridos a 120V durante 1 hora. Como marcador de peso molecular se emplearon 100 pares de bases (Gibco BRL) (12).

Análisis estadístico

Se evaluó el grado de concordancia de las observaciones en los geles, para estimar si la asociación de los sistemas de medida de una variable continua concordaba. Para medir la concordancia se usó el coeficiente Kappa (k), mediante el programa estadístico EpiInfo V6, que corresponde a la proporción de concordancias observadas sobre el total de observaciones, habiendo excluido las concordancias atribuibles al azar. El coeficiente Kappa (k) toma valores entre -1 y +1; mientras más cercano a +1, mayor es el grado de concordancia inter-observador. Por el contrario, un valor de k = 0 refleja que la concordancia observada es precisamente la que se

espera a causa exclusivamente del azar. La interpretación del coeficiente Kappa se realiza correlacionando su valor con una escala cualitativa. Se tomaron como valores negativos las muestras ausentes de *L. monocytogenes* y como positivos las muestras con *L. monocytogenes*. La escala cualitativa fue: 0 – 0,2 = “leve”; 0,2 – 0,4 = “aceptable”; 0,4 – 0,6 = “moderada”; 0,6 – 0,8 = “considerable”; 0,8 – 1 = “casi perfecta” (13).

RESULTADOS

La Tabla 1 muestra los resultados del crecimiento presuntivo de *Listeria spp* en agar PALCAM en las 30 muestras de queso blanco fresco analizadas. En esta tabla, se observa el resultado del crecimiento presuntivo de *Listeria spp* en 8 de las 30 muestras analizadas..

TABLA 1
Crecimiento presuntivo de *Listeria* en muestras de queso blanco fresco

Muestra N°	Crecimiento
1	Negativo
2	Negativo
3	<i>Listeria</i> Presuntiva
4	Negativo
5	<i>Listeria</i> Presuntiva
6	Negativo
7	Negativo
8	Negativo
9	Negativo
10	<i>Listeria</i> Presuntiva
11	Negativo
12	<i>Listeria</i> Presuntiva
13	<i>Listeria</i> Presuntiva
14	Negativo
15	Negativo
16	<i>Listeria</i> Presuntiva
17	Negativo
18	Negativo
19	Negativo
20	Negativo
21	Negativo
22	Negativo
23	Negativo
24	<i>Listeria</i> Presuntiva
25	<i>Listeria</i> Presuntiva
26	Negativo
27	Negativo
28	Negativo
29	Negativo
30	Negativo

Las pruebas confirmatorias realizadas a las 8 muestras de queso blanco fresco consideradas como “*Listeria* presuntiva”,

fueron necesarias para descartar resultados reales positivos y reales negativos; ya que el crecimiento en agar PALCAM de *Streptococcus spp.* y *Staphylococcus spp.*, producen colonias muy similares a *Listeria spp* y pueden encubrir el crecimiento real de *Listeria spp*

La Tabla 2 muestra las pruebas confirmatorias realizadas para las 8 muestras de queso blanco fresco que resultaron como “*Listeria* presuntiva”. Se pudo observar que las muestras N°5 y N°10 tenían características propias para *L. monocytogenes*, es decir, colonias color verde oscuro con un halo negro y un hundimiento central en agar PALCAM, bacilos gram positivos dispuestos en empalizada, motilidad positiva para la prueba SIM en la forma de umbrella característica, hemólisis positiva y prueba de CAMP con *S. aureus* positiva y reacción ácido/ácido (A/A) para el TSI. La muestra N° 16 aunque presentaba características morfológicas y bioquímicas para ser considerada como *L. monocytogenes*, no fermentó la ramnosa pero si fermentó xilosa, por lo que fue catalogada como *L. seeligeri*, mientras que la muestra N° 3 resulto ser negativa para la prueba de CAMP con *S. aureus*, por lo que fue catalogada como *L. ivanovii*.

En la Figura 1 se muestra la corrida electroforética de todas las muestras de queso y controles; se pudo observar que el PCR amplificó para las muestras (N°5 y N°10) y para los controles con *L. monocytogenes*, las bandas 938 pb para género *Listeria* y 750 pb para la especie *monocytogenes*. Se evidencia que las muestras (N°3, N°16, N°24 y N°25) amplificaron sólo la banda 938 pb que corresponde al género *Listeria* al igual que en los controles empleados sin *L. monocytogenes*; no se observó amplificación de bandas en el resto de las muestras y en los controles sin este patógeno.

Se encontró una reproducibilidad en el ensayo del 100 %, dado que sólo las cepas de *Listeria monocytogenes* amplificaron las bandas de 938pb y 750pb; mientras que la cepa de *Listeria ivanovii* y *Listeria seeligeri* amplificaron la banda de 938pb. Las muestras de *S. aureus* CVCM 718, *E. coli* CVCM 304, *S. bovis* CVCM 648, no amplificaron ninguna de las bandas. El pool de muestra inoculada con *L. monocytogenes* CVCM 446, *L. ivanovii* colección UC, *S. aureus* CVCM 764, *E. coli* CVCM 304 y *S. bovis* CVCM 648, amplificaron las bandas 938 pb y 750 pb que corresponden al género *Listeria* y a la especie *monocytogenes*. La muestra inoculada con *L. ivanovii* colección UC, *S. aureus* CVCM 764, *E. coli* CVCM 304 y *S. bovis* CVCM 648, amplificó solo la banda 938 pb correspondiente al género *Listeria* (Figura 1). Con esto también se demuestra la especificidad del PCR, en que las muestras sin el microorganismo no amplificaron, lo que significa que el PCR tiene la capacidad de detectar negativos que verdaderamente son negativos y positivos que realmente son positivos a la presencia del microorganismo. La concordancia estadística observada para el método de PCR, indicó que existe un 100% de concordancia entre la respuesta obtenida en los controles y las muestras analizadas.

TABLA 2
Pruebas confirmatorias realizadas a las muestras de “*Listeria* presuntiva” observadas en el queso blanco fresco

Muestra N°	E	C	SIM	H	CAMP	R	X	M	TSI	Resultado
3	+	+	+	+	-			-	A/A	<i>L. ivanovii</i>
5	+	+	+	+	+	+	-	-	A/A	<i>L. monocytogenes</i>
10	+	+	+	+	+	+	-	-	A/A	<i>L. monocytogenes</i>
12	+	+	-	-	-			+	A/A	NEGATIVO
13	+	+	-	-	-			+	A/A	NEGATIVO
16	+	+	+	+	+	-	+	-	A/A	<i>L. seeligeri</i>
24	+	+	+	+	-			+	A/A	<i>L. ivanovii</i>
25	+	+	+	+	-			+	A/A	<i>L. Ivanovii</i>

E: esculina; C: catalasa; SIM: sulfuro de hidrógeno, indol y motilidad; H: hemólisis; CAMP: con *S. aureus*; R: ramnosa; X: xilosa; M: manitol; TSI: lactosa, sacarosa y glucosa

La sensibilidad del ensayo de PCR se verificó al observar la amplificación de las bandas 938 pb y 750 pb en la dilución 1:16 con el control de *Listeria monocytogenes* 446

El método es altamente reproducible y estadísticamente confiable, ya que el análisis arrojó un valor para kappa de 1, valor que lo califica como de concordancia total o “casi perfecta”.

DISCUSION

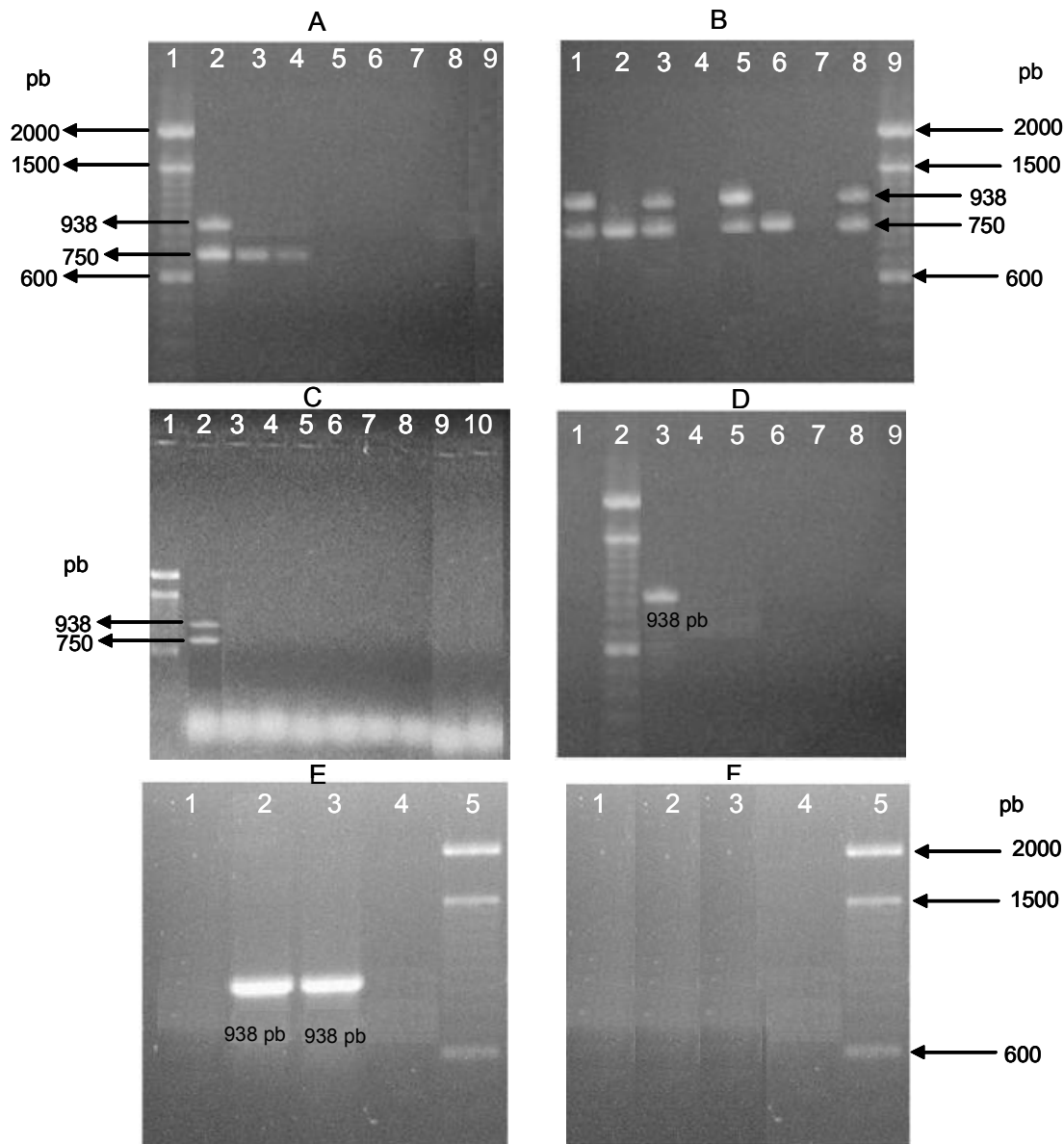
El crecimiento presuntivo de *Listeria spp* en 8 de las 30 muestras analizadas en el presente estudio coincide con lo expresado por diferentes investigadores, quienes sugieren que el crecimiento de esta bacteria es de distribución amplia en la naturaleza, a causa de su resistencia a condiciones extremas de temperatura, acidez y salinidad y su capacidad para multiplicarse a bajas temperaturas (14-16). *Listeria monocytogenes* es una bacteria gram positiva, no esporulada responsable de la listeriosis humana transmitidas por alimentos (ETA) y se ha convertido en un importante problema de salud pública desde el último decenio (17). Puede causar enfermedades, entre ellas la mastitis en vacas, por lo que ha sido escogida como modelo experimental para el desarrollo de métodos de diagnóstico molecular para patógenos transmitidos por la leche y está considerada como uno de los más importantes patógenos emergentes (18-20)]. *L. monocytogenes* puede presentarse conjuntamente con microorganismos competidores y otras cepas de *Listeria spp.*, en muestras de alimentos, esta situación hace más difícil el aislamiento del patógeno por el método convencional, además de ser un procedimiento demorado, por lo que recurrir a la técnica molecular de PCR se puede identificar el género *Listeria* y la especie *monocytogenes*.

La corrida electroforética de todas las muestras de queso y controles el PCR amplificó las bandas 938 pb y 750 pb en aquellas muestras y controles que contenían *Listeria*

monocytogenes; mientras que, las muestras que no contenían *Listeria monocytogenes*; amplificaron sólo la banda 938 pb correspondiente al género *Listeria*, resultado éste que concuerda con lo reportado por Scotter y col., (20); esto explica la especificidad de la técnica para detectar negativos que verdaderamente son negativos y positivos que realmente son positivos a la presencia del microorganismo. En los carriles 7 y 8 de la corrida electroforética (Figura 1C), correspondientes a las muestras 12 y 13 de queso blanco criollo que habían sido catalogadas como *Listeria* presuntiva no amplificaron la banda 938 pb ni la 750 pb correspondiente a género y especie respectivamente de *Listeria monocytogenes*. La selección de estas muestras como *Listeria* presuntiva fue debido a que el agar PALCAM, a pesar de ser un agar selectivo para *Listeria*, permite el crecimiento de otros microorganismos como el *Streptococcus* cuya morfología de crecimiento de la colonia, en relación al color de la misma es similar, lo que no ocurrió con el PCR que al tener una alta especificidad, permite la identificación exacta por tratarse de una técnica molecular.

El ADN cromosomal de la cepa control de *L. monocytogenes* 446 empleada, evidenció una alta especificidad y sensibilidad a la técnica ya que los primers empleados amplificaron las bandas de 938 pb y 750 pb específicas para género y especie respectivamente. Los primers LU1, U1 y LF, LR utilizados en el ensayo de PCR permitieron la detección simultánea del género *Listeria* y de la especie *monocytogenes*. Este hallazgo es importante en los casos en que la asociación de *L. monocytogenes* con otras especies de *Listeria* y con otros géneros bacterianos pueda ocurrir. Igualmente se demostró que los primers LU1, U1 y LF, LR, tienen una alta afinidad por la secuencia blanco correcta y son específicos y sensibles para *L. monocytogenes* (4,10). Otros investigadores han utilizado primers que amplifican un único producto de alguno de los genes característicos de la especie *monocytogenes* y no descartan la reacción cruzada con otros

FIGURA 1



Electroforesis en gel de agarosa al 1% (p/v) en TAE IX. Teñido con 0,2 $\mu\text{g/ml}$ de bromuro de etidio. A. Carril 1: marcador de peso molecular 100pb (Gibco BRL), carril 2: *Listeria monocytogenes* CVCM 446, carril 3: *Listeria ivanovii* colección UC, carril 4: *Listeria seeligeri* colección UC, carril 5: *Escherichia coli* CVCM 304, carril 6: *Staphylococcus aureus* CVCM 718, carril 7: Pool de muestra de *Streptococcus bovis* CVCM 648, *Escherichia coli* CVCM 304, *Staphylococcus aureus* CVCM 718, carril 8: muestra N° 1 queso blanco criollo, carril 9: muestra N° 2 queso blanco criollo. B. Carril 1: muestra N° 10 queso blanco criollo, carril 2: muestra N° 3 queso blanco criollo, carril 3: muestra N° 5 queso blanco criollo, carril 4: muestra N° 4 queso blanco criollo, carril 5: *Listeria monocytogenes* CVCM 446, carril 6: *Listeria ivanovii* colección UC, carril 7: muestra N° 6 queso blanco criollo, carril 8: Pool de muestras de *Listeria monocytogenes* CVCM 446, *Streptococcus bovis* CVCM 648, *Escherichia coli* CVCM 304, *Staphylococcus aureus* CVCM 718, carril 9: marcador de peso molecular 100pb (Gibco BRL). C. Carril 1: marcador de peso molecular 100pb (Gibco BRL), carril 2: *Listeria monocytogenes* CVCM 446, carril 3 al 5: muestra N° 7 al 9 queso blanco criollo, carril 6 al 10: muestra N° 11 al 15 queso blanco criollo. D. Carril 1: muestra N° 15 queso blanco criollo, carril 2: marcador de peso molecular 100pb (Gibco BRL), carril 3: muestra N° 16 queso blanco criollo, carril 4 al 9: muestra N° 17 al 22 queso blanco criollo. E. Carril 1: muestra N° 23 queso blanco criollo, carril 2: muestra N° 24 queso blanco criollo, carril 3: muestra N° 25 queso blanco criollo, carril 4: muestra N° 26 queso blanco criollo, carril 5: marcador de peso molecular 100pb (Gibco BRL). F. Carril 1 al 4: muestra N° 27 al 30 queso blanco criollo, carril 5: marcador de peso molecular 100pb (Gibco BRL).

géneros bacterianos presentes en la muestra (21,22). La amplificación del fragmento que identifica la especie *monocytogenes*, es importante para descartar reacciones cruzadas con la hemolisina del *Streptococcus*. Makino y col., (22) utilizaron primers LA1 y LB1 que amplificaban un fragmento de ADN de 626pb, que identificaban el género *Listeria* y no la especie. Otros autores, aplicaron primers para identificar tanto el género *Listeria* como la especie *monocytogenes*, pero su especificidad, comparada con los que amplifican fragmentos del gen de la listeriolisina O (*hlyA*), ha sido menor (23-26).

Se concluye que el tiempo de demora del PCR para la detección de *L. monocytogenes* es mucho mas corto, en comparación con el método tradicional Agar PALCAM, el cual representa un buen método de aislamiento microbiológico pero con el requerimiento de una confirmación a través de pruebas bioquímicas, lo que alarga el tiempo para la identificación y reporte del microorganismo.

REFERENCIAS

- Oreamuno S. Presencia de *Listeria monocytogenes* y su relación con el nivel de coliformes fecales durante la manufactura de queso blanco en plantas de la zona de Santa Cruz, Turrialba. Tesis. Licenciatura en Tecnología de Alimentos. Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica; 2001.
- Ortolani MB, Yamazi AK, Moraes PM, Viçosa GN, Nero LA. Microbiological Quality and Safety of Raw Milk and Soft Cheese and Detection of Autochthonous Lactic Acid Bacteria with Antagonistic Activity Against *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* Spp., and *Staphylococcus aureus*. Foodborne Pathog Dis. 2009 Oct 19.
- Gardan, R.; Cossart, P.; The European *Listeria* Genome Consortium, Labadie, J. Identification of *Listeria monocytogenes* Genes Involved in Salt and Alkaline-pH Tolerance. Appl. Environ. Microbiol. 2003; 69(6):3137-3143.
- Torres KJ, Sierra SC, Poutou RA, Vera H, Carrascal AK, Mercado M. Incidencia y diagnóstico de *Listeria Monocytogenes*; microorganismo zoonótico emergente en la industria de alimentos. UDCA Actualidad & Divulgación Científica. 2004;7(1):25 - 57.
- Allaert, C. y Escolá, M. Métodos de Análisis Microbiológicos de Alimentos. 3era ed. Díaz de Santos S.A. México; 2002.
- Wan J, King K, Forsyth S, Coventry MJ. Detection of *Listeria monocytogenes* in Salmon Using the Probelia Polymerase Chain Reaction System. J. Food Protection. 2003; 66(3):436-440.
- COVENIN, 2001. Norma N° 3718:2001 "Aislamiento e identificación de *Listeria monocytogenes* en alimentos". Comisión Venezolana de Normas Industriales. Fondonorma. Venezuela.
- COVENIN, 1989. Norma N° 1126-89 "Alimentos. Codificación y preparación de muestras para el análisis microbiológico". Comisión Venezolana de Normas Industriales. Fondonorma. Venezuela.
- Bansal NS. Development of a Polymerase Chain Reaction Assay for the Detection of *L. monocytogenes* in Foods. Appl. Microbiol. 1996; (22):353 - 356.
- Zamora, A.; Ossa, H.; Carrascal, A.; Poutou, R.; Jiménez, D. Identificación Preliminar de *L. monocytogenes* por PCR. Laboratorio Actual 2000; 17(33):38-41.
- Burbano E, Carrascal A, Mercado M, Poutou R. Validación de PCR para *Listeria monocytogenes* en Leches. Normas y Calidad – PUJ 2003; (57):39-48.
- Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T. Gel Electrophoresis of DNA. Molecular Cloning: A Laboratory Manual. New York, Cold Spring Harbor Laboratory Press 1989; (1):1-62.
- Sox HC. Common Diagnostic Tests Use and Interpretation. Philadelphia, American College of Physicians; 1987.
- Kathariou S. *Listeria monocytogenes* virulence and pathogenicity, a food safety perspective. J Food Prot. 2002; Nov 65(11):1811-29.
- Bansal NS. Development of a Polymerase Chain Reaction Assay for the Detection of *L. monocytogenes* in Foods. Appl. Microbiol. 1996; (22):353 - 356.
- Citti R, Scaramelli A y González I. Aislamiento de *Listeria monocytogenes* en muestras de queso blanco duro tipo llanero del Distrito Sanitario Uno del estado Aragua, Venezuela. Rev Fac Cs Vets UCV. 1999; 40(2):101-110.
- O'Brien M, Hunt K, McSweeney S, Jordan K. Occurrence of foodborne pathogens in Irish farmhouse cheese. Food Microbiol. 2009; 26(8):910-4.
- Little CL, Sagoo SK, Gillespie IA, Grant K, McLauchlin J. Prevalence and level of *Listeria monocytogenes* and other *Listeria* species in selected retail ready-to-eat foods in the United Kingdom. J Food Prot. 2009; 72(9):1869-77.
- Fox E, O'Mahony T, Clancy M, Dempsey R, O'Brien M, Jordan K. *Listeria monocytogenes* in the Irish dairy farm environment. J Food Prot. 2009; 72(7):1450-6.
- Scotter SL, Langton S, Lombard B, Schulten S, Nagelkerke, N, In't Veld, P. et al. Validation of ISO Method 11290 Part 1. Detection of *Listeria monocytogenes* in Foods. I.J.Food Micro. 2001; (64):295-306.
- Ingianni A, Floris M, Palomba P, Madeddu MA, Quartuccio M, Pompei R. Rapid Detection of *Listeria monocytogenes* in Foods, by a Combination of PCR and DNA Probe. Molecular and Cellular Probes 2001; (15):275-280.
- Makino S, Okada Y, Maruyama TA. New Method for Direct Detection of *L. monocytogenes* From Food by PCR. Appl. Environ. Microbiol 1995; 61(10):3745-3747.
- Duffy, G.; Cloak, O.; Sheridan, J.; Blair, I.; McDowell, D. The Development of a Combined Surface Adhesion and Polymerase Chain Reaction Technique in the Rapid Detection of *Listeria monocytogenes* in Meat and Poultry. I.J.Food Micro. 1999; (49):151-159.
- Poutou, RA.; Burbano, ME; Sierra, SC; Torres, KJ; Carrascal, AK; Mercado, M. Estandarización de la extracción de ADN y validación de la PCR múltiple para detectar *Listeria monocytogenes* en queso, leche, carne de res y pollo. Univ Scient 2005; 10(2): 61-78.
- Carrascal AK, Albarracín Y, Sarmiento P. Incidencia de *Listeria monocytogenes* en leche de vaca expendida en el municipio de Pamplona, Colombia. BISTUA 2007; 5(2):49-57.
- Gallegos, J.; Arrieta, G.; Máttar, S.; Poutou, R.; Trespalacios, A.; Carrascal, A. Frecuencia de *Listeria* spp., en quesos colombianos costeros. Rev.MVZ Cordoba 2007; 12(2):996-1012.

Recibido: 16-04-2010

Aceptado: 30-07-2010

Avaliação físico-química e microbiológica do leite UHT comercializado em três países do Mercosul (Brasil, Argentina e Paraguai)

Domareski Jackson Luiz, Bandiera Nataly Simões, Sato Rafael Tamostu, Aragon-Alegro Lina Casale, Santana Elsa Helena Walter de

Universidade Estadual de Londrina UEL, Londrina, PR, Brasil. Universidade Norte do Paraná, UNOPAR, Londrina, PR, Brasil. Universidade de São Paulo- USP. Brasil

RESUMO. Com o objetivo de avaliar a qualidade físico-química e microbiológica do leite UHT comercializado em três países do Mercosul, as amostras de 04 marcas diferentes vendidas nas cidades de Foz do Iguaçu (Brasil), de Puerto Iguazú (Argentina) e de Ciudad del Este (Paraguai) foram submetidas a determinação de matéria gorda, acidez, estabilidade ao etanol 68%, 72%, 76% e 80%, extrato seco total e extrato seco desengordurado, pH, densidade e crioscopia, além da contagem de microrganismos mesófilos e psicrotróficos. Na avaliação físico-química do leite UHT conclui-se que um número significativo de amostras apresentou-se fora dos padrões de qualidade para gordura, extrato seco desengordurado, densidade e crioscopia; os leites analisados exibiram resistência (estabilidade) ao etanol a 68%, salvo uma das marcas do Brasil; médias de valores de pH estavam adequados para as marcas de leite do Brasil, e valores elevados nas marcas de leite do Paraguai. Quanto aos resultados das análises microbiológicas, 37,5% das amostras do Brasil, 62,5 % das amostras da Argentina e 12,5% das amostras do Paraguai apresentaram valores acima dos valores limites para microrganismos mesófilos. Quanto às análises de psicrotróficos, 50% das amostras do Brasil e da Argentina, assim como 100% das amostras do Paraguai apresentaram-se fora dos padrões estabelecidos pela legislação.

Palavras chave: Físico-química, microbiologia, leite UHT.

SUMMARY. Physico-chemical and microbiological evaluation of UHT milk commercialized in three Mercosul countries (Brazil, Argentina and Paraguay). With the aim to evaluate the physico-chemical and microbiological quality of UHT milk commercialized in three countries of Mercosul, samples of four different brands were acquired in each city (Foz do Iguaçu - Brazil, Puerto Iguazú - Argentina and Ciudad del Este - Paraguay) and submitted to the following analysis: fat content, titratable acidity, milk ethanol stability (with the following ethanol concentrations: 68, 72, 76 and 80%), total dry extract and no fat dry extract, pH, density and freezing point. Counts of mesophilic and psychrotrophic microorganisms were already done. In the physico-chemical evaluation of UHT milk, a significant number of samples were in disagree with the established patterns for fat content, no fat dry extract, density and freezing point. Except one brand from Brazil, milk samples showed stability to 68% ethanol. pH averages of Brazilian milk were in agree with the patterns and highest values were observed in samples acquired on Paraguay. Observing the microbiological analysis, 37.5%, 62.5% and 12.5% of samples acquired from Brazil, Argentina and Paraguay, respectively, showed counts above the established patterns for mesophilic microorganisms. Counts of psychrotrophic microorganisms were in disagree with the established patterns in 50%, 50% and 100% of samples from Brazil, Argentina and Paraguay, respectively.

Key words: Physico-chemical, microbiology, UHT milk.

INTRODUÇÃO

Do ponto de vista biológico, o leite pode ser considerado um dos alimentos mais completos, por apresentar, entre outras características, alto teor de proteínas e sais minerais (1). Por tratar-se de um produto perecível, merece atenção especial na sua produção, beneficiamento, comercialização e consumo, pois estará sempre sujeito a uma série de alterações (2). Os micro-organismos presentes no leite *in natura* são os mesmo encontrados no úbere e na pele do animal, nos utensílios de ordenha ou nas tubulações da coleta. Sob condições adequadas de preservação a microbiota prevalente é a Gram-positiva (3). A intensidade da contaminação é variável, de acordo com a população microbiana do ambiente onde o alimento foi

obtido, a qualidade do produto fresco, o método de manipulação, o tempo e as condições de armazenamento (4).

A refrigeração do leite, imediatamente após a ordenha, tem por objetivo a diminuição da multiplicação de microrganismos mesófilos que produzem ácido láctico a partir da degradação da lactose, promovendo acidificação do leite. Porém, as baixas temperaturas de estocagem do leite, entre 4 e 7°C, selecionam outro grupo de microrganismos, os psicrotróficos, que são capazes de se desenvolver em temperaturas de refrigeração (5,6). Este fato é importante, pois a legislação brasileira (7) vem buscando a obrigatoriedade da refrigeração do leite na propriedade bem como o transporte a granel em caminhões isotérmicos.

A contaminação do leite por microrganismos psicrotróficos, o ponto mais importante na determinação da qualidade do leite (8) Essas bactérias, apesar de apresentarem multiplicação lenta, produzem grandes quantidades de enzimas lipolíticas e proteolíticas termorresistentes (9,10), provocando alterações físicas e organolépticas que comprometem a produção de derivados do leite (11). São encontrados no leite são em sua maioria Gram negativos, provenientes do meio ambiente e equipamentos de ordenha. Os psicrotróficos Gram negativos encontrados com maior frequência em leite refrigerado cru e pasteurizado são do gênero *Pseudomonas*. Outro grupo de microrganismos, denominados de psicrotróficos termodúricos, também têm importância na determinação da qualidade do leite. (11,12). Entre os psicrotróficos Gram positivos mais frequentes em leite cru resfriado estão os gêneros (13,14).

No leite UHT, menos de 50% das enzimas proteolíticas são inativadas, e sua atividade prossegue no leite, assim como o comportamento das lipases. Um fenômeno importante causado pelas proteases é o da geleificação do leite UHT. Os mecanismos envolvidos no fenômeno de gelatinização compreendem basicamente alterações das proteínas do leite, associação e dissociação de íons cálcio, formação de polímeros provenientes da reação de Maillard, formação e dissociação do complexo -caseína com as proteínas do soro e participação de enzimas naturais do leite (plasmina) e proteases bacterianas (psicrotróficos) (15). A maior rapidez no aparecimento do fenômeno de gelatinização em leite UHT está associada à severidade do tratamento térmico e aos níveis de contaminação dos microrganismos psicrotróficos (16).

A esterilização pelo processo UHT (Ultra High Temperature), que dá origem ao leite chamado longa vida tem como objetivo a obtenção de um produto bacteriologicamente estéril e que mantenha as características nutritivas e organolépticas do produto fresco (17). Entende-se por leite UHT, o leite homogeneizado que foi submetido, durante 2 a 4 segundos, a uma temperatura entre 130°C a 150°C, mediante um processo térmico de fluxo contínuo, imediatamente resfriado a uma temperatura inferior a 32°C e envasado sob condições assépticas em embalagens estéreis e hermeticamente fechadas (18)

As combinações das tecnologias de ultrapasteurização de envase asséptico em embalagens longa vida e da retirada do ar no momento do fechamento da embalagem, garantem ao leite UHT a preservação de suas propriedades organolépticas e nutritivas, sem necessidade de conservantes e de refrigeração (19). O termo “esterilização comercial” indica que o alimento é microbiologicamente estável, visto que os microrganismos que sobreviveram à esterilização são espécies termófilas e só tem capacidade de se desenvolverem em temperaturas superiores a 45°C e, portanto, não são capazes de se multiplicar nas condições normais de armazenamento do leite (20, 21).

Pela comodidade, o consumo de leite UHT ou UAT está

aumentando consideravelmente, com expectativas de este setor permanecer em franco crescimento. Em 2009, uma pesquisa foi realizada e verificou-se que o leite UHT está presente em 87% das moradas brasileiras, representando 76% do leite fluido de consumo e mais de 47% do total do leite consumido no Brasil (19). Segundo a Tetra Pak, estima-se que o consumo mundial de leite UHT deverá crescer, anualmente, 5,2% até 2012 (22).

Para se avaliar a qualidade do leite UHT alguns parâmetros de qualidade são pesquisados, entre eles o índice crioscópico, densidade, estabilidade ao álcool, acidez titulável, pH, teor de gordura e extrato seco total (EST) e desengordurado (ESD). A adição de água ao leite é uma fraude comum, desta forma as provas de densidade e o índice crioscópico também podem ser usados para indicar estas adulterações. A determinação de fraude do leite por adição de água é a aplicação mais usual da crioscopia em laticínios, em razão da diminuição do valor nutricional, da queda do rendimento na fabricação de derivados e da contribuição para contaminação microbiana (23). A densidade é o peso específico do leite, cujo resultado depende da concentração de elementos em solução e da porcentagem de gordura (24).

A acidez é uma das determinações mais usadas em controle de qualidade de leite e derivados (25) e pode apresentar alterações nas provas de acidez Dornic, determinação de pH e estabilidade ao álcool. Estes testes têm sido utilizados com o objetivo de detectar aumentos na concentração de ácido láctico e estabilidade ao calor e, conseqüentemente, podem indicar a qualidade microbiológica inadequada do produto (24). O uso de diferentes concentrações de álcool deve ser avaliado cada caso em particular em função do tipo de produto a ser fabricado e dos sistemas de produção.

Ainda sobre os parâmetros de qualidade, a gordura é o componente mais importante do leite, pois possui inúmeras propriedades que permite diversificação nas indústrias lácteas e é responsável por boa parte das características sensoriais do leite (26). A determinação do EST tem como objetivo verificar fraudes por adição de água, verificar a integridade do leite e estimar o rendimento na indústria de produtos lácteos (27).

Diversos estudos no Brasil foram realizados com o objetivo de avaliar a qualidade do leite UHT comercializado a partir de parâmetros de qualidade físico-químicos e microbiológicos e várias amostras foram encontradas fora dos padrões determinados pela legislação (21,28-30). Assim, devido ao aumento no consumo de leite UHT pela população e os problemas existentes quanto à qualidade de matéria-prima e do leite UHT comercializado, este trabalho teve como objetivo avaliar as características físico-químicas e microbiológicas de diferentes marcas de leite UHT comercializados em três países do Mercosul (Brasil, Argentina e Paraguai), bem como se os produtos adquiridos estavam de acordo com os padrões de qualidade determinados pela legislação vigente do Mercosul.

MATERIAL E METODOS

As amostras de leite UHT integral foram adquiridas no mês de setembro de 2008, em supermercados de pequeno e grande porte nas cidades Foz do Iguaçu (Brasil), Ciudad del Este (Paraguai) e Puerto Iguazú (Argentina). As marcas analisadas tinham data de fabricação que variavam entre os meses de julho a setembro de 2008. A data de validade do leite UHT é determinada pela indústria, mas de maneira geral é de 120 dias. Desta forma, todas as amostras analisadas estavam dentro do prazo de validade e com no máximo 60 dias de fabricação.

Foram avaliadas, de cada país (Brasil, Paraguai e Argentina), quatro marcas de leite. Para as análises físico-químicas foi utilizada 01 amostra de cada lote, sendo dois lotes diferentes para cada marca, e cada uma das análises foi realizada em duplicata, realizando a média dos mesmos para interpretação dos resultados. E para as análises microbiológicas foram utilizadas 03 amostras de cada lote, sendo 2 lotes diferentes para cada marca, totalizando 24 amostras para cada país, e 72 amostras no total.

Análises físico-químicas

As características físico-químicas estudadas compreenderam a determinação do teor de gordura pelo método de Gerber, da acidez titulável pelo método de Dornic, do pH (potencial hidrogeniônico) entre 20 e 22 °C em pHgâmetro, da estabilidade com emprego de solução alcoólica a 68%, 72, 76 e 80%, do extrato seco total (EST) e do extrato desengordurado (ESD), através do cálculo utilizando a fórmula de Fleishmann, da densidade a 15°C (g/cm³) e do IC (índice crioscópico) em crioscópio eletrônico digital, conforme metodologia AOAC (1997) (31) e BRASIL (2006). Os parâmetros físico químicos selecionados para avaliação da qualidade das amostras de leite UHT estudadas compreenderam os parâmetros mínimos de qualidade estabelecidos pela legislação vigente aos países do Mercosul (33) e Brasil (34).

Análises microbiológicas

Para a avaliação microbiológica, as amostras foram incubadas em estufa à temperatura de 35 – 37 °C, durante 07 dias, de acordo com Mercosul (33) e Brasil (34). Após esse período foi realizada a contagem de microorganismos aeróbios mesófilos e a contagem de bactérias psicrotróficas em unidades formadoras de colônias (UFC).

Para contagem de microrganismos aeróbios mesófilos utilizou-se o Ágar PCA (Ágar para contagem padrão) incubando as amostras a 32°C/48 horas e para a contagem de psicrotróficos foi realizada a técnica de contagem rápida incubando-as a 21°C/25 horas, conforme metodologia (14).

A contagem de aeróbios mesófilos faz parte dos critérios

microbiológicos e de tolerância para leite UHT segundo a legislação vigente aos países do Mercosul (33). A contagem de psicrotróficos, apesar de ser indicada apenas em análises de qualidade de leite cru, neste estudo foi realizada nas amostras de leite UHT com o intuito de verificar se havia uma microbiota psicrotrófica termorresistente.

Análise estatística

Para avaliação dos parâmetros físico químicos do leite UHT dos três países estudados (Brasil, Argentina e Paraguai) utilizou-se para determinar a diferença entre as médias do ESD, densidade e pH o teste ANOVA e Tukey. Para a diferença entre as médias do EST, índice crioscópico, porcentagem de gordura e acidez titulável utilizou-se Kruskal-Wallis

RESULTADOS

A legislação vigente aos países do Mercosul estabelece padrões físico-químicos para o leite UHT integral de mínimo de 3% de gordura, acidez titulável entre 14 e 18 °D (01,4 a 0,18 de acidez em g. de ácido láctico/100mL), estabilidade ao etanol a 68% , no mínimo 8,2% de ESD e pH entre 6,6 e 6,8 (33). A legislação em questão Mercosul não estabelece padrões físico-químicos de densidade, Extrato Seco Total (EST) e índice crioscópico para o leite UHT, mas apesar disto, estes padrões são importantes parâmetros de qualidade. Assim, os padrões físico-químicos para o leite cru refrigerado e pasteurizado (7) de densidade entre 1028 e 1034 g/mL, o índice crioscópico máximo aceitável de -0,530 °H e o EST mínimo de 11,5% foram utilizados para discussão dos resultados do leite UHT

As amostras foram designadas de 1, 2, 3 e 4 referente às quatro marcas analisadas de cada um dos três países.

Os resultados das análises físico-químicas estão dispostos nas Tabelas 1 a 7. Os resultados estão apresentados em valores médios obtidos através da duplicata e triplicata realizada para cada um dos lotes de cada marca analisada.

TABELA 1

Valores médios da concentração de gordura (%) presentes nas amostras de leite UHT dos três países do Mercosul (Brasil, Argentina e Paraguai) analisadas entre os meses de setembro a novembro de 2008

Marcas	Países		
	Brasil	Argentina	Paraguai
1	3,35	3,03	3,25
2	3,08	2,60	3,20
3	3,08	2,93	3,35
4	3,03	2,80	1,85

Cada valor é a média de 06 valores. Valor de referência: mínimo de 3% de gordura.

TABELA 2

Valores médios de pH para as amostras de leite UHT dos três países do Mercosul (Brasil, Argentina e Paraguai) analisadas entre os meses de setembro a novembro de 2008

Marcas	Países		
	Brasil	Argentina	Paraguai
1	6,82	6,64	7,02
2	6,86	6,60	6,81
3	6,83	6,51	6,88
4	6,76	6,47	7,11

Cada valor é a média de 10 valores. Valor de referência: pH de 6,6 a 6,8.

TABELA 3

Valores médios de acidez titulável (°D) presentes nas amostras de leite UHT dos três países do Mercosul (Brasil, Argentina e Paraguai) analisadas entre os meses de setembro a novembro de 2008

Marcas	Países		
	Brasil	Argentina	Paraguai
1	16,3	16,0	15,8
2	16,8	16,0	16,5
3	16,0	16,0	16,8
4	16,0	16,5	16,0

Cada valor é a média de 4 valores. Valor de referência: acidez titulável de 14 a 18°D.

TABELA 4

Valores médios de Extrato Seco Total- EST (%) e Extrato Seco Desengordurado- ESD (%) presentes nas amostras de leite UHT dos três países do Mercosul (Brasil, Argentina e Paraguai) analisadas entre os meses de setembro a novembro de 2008

Marcas	Brasil		Países		Paraguai	
	EST	ESD	EST	ESD	EST	ESD
1	11,4	8,1	10,6	8,1	10,6	7,4
2	11,0	8,0	10,4	7,8	11,0	7,8
3	11,1	8,0	11,0	8,1	11,2	7,8
4	11,2	8,2	10,2	7,4	9,0	7,1

Cada valor é a média de 4 valores. Valores de referência: mínimo 8,2% de ESD.

TABELA 5

Estabilidade a diferentes concentrações de etanol (%) das amostras de leite UHT dos três países do Mercosul (Brasil, Argentina e Paraguai) analisadas entre os meses de setembro a novembro de 2008

Marcas	Países											
	Brasil				Argentina				Paraguai			
	68	72	76	80	68	72	76	80	68	72	76	80
1	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	+	-	+	+	+	-	+	+	+
3	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+
4	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-

Valor de referência: no mínimo estabilidade ao etanol a 68%.

TABELA 6

Valores médios de densidade (g/mL) presentes nas amostras de leite UHT dos três países do Mercosul (Brasil, Argentina e Paraguai) analisadas entre os meses de setembro a novembro de 2008

Marcas	Países		
	Brasil	Argentina	Paraguai
1	1,029	1,029	1,026
2	1,028	1,028	1,027
3	1,028	1,029	1,028
4	1,029	1,026	1,026

Cada valor é a média de 4 valores. Valor de referência: densidade entre 1028 e 1034 g/mL.

TABELA 7

Valores médios do índice crioscópico- IC (°H) para as amostras de leite UHT dos três países do Mercosul (Brasil, Argentina e Paraguai) analisadas entre os meses de setembro a novembro de 2008

Marcas	Países		
	Brasil	Argentina	Paraguai
1	- 0,543	- 0,530	- 0,521
2	- 0,541	- 0,521	- 0,534
3	- 0,546	- 0,546	- 0,537
4	- 0,539	- 0,517	- 0,541

Cada valor é a média de 4 valores. Valor de referência: máximo de -0,530 °H.

De acordo com o regulamento de identidade e qualidade do leite UHT (34), o leite UHT não deve ter microrganismo capazes de proliferar em condições normais de armazenamento e distribuição após uma incubação na embalagem fechada a 35-37°C, durante 7 dias, podendo apresentar contagem máxima de mesófilos de 100 UFC/mL. Para a contagem de psicrotóxicos, utilizou-se como critério de qualidade o Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal: BRASIL - RIISPOA (35), onde o leite

deve apresentar no máximo 10% de microrganismos psicrotóxicos, em relação a contagem total de aeróbios mesófilos.

Foram avaliados 8 lotes diferentes em cada país (2 lotes/marca) e nas Figuras 1 e 2, foram apresentados os resultados da contagem total de aeróbios mesófilos e da contagem total de psicrotóxicos para as amostras de leite UHT coletadas nos três países do Mercosul.

FIGURA 1
Contagem total de aeróbios mesófilos em amostras coletadas em três países do Mercosul (Brasil, Argentina e Paraguai) analisadas entre os meses de setembro a novembro de 2008

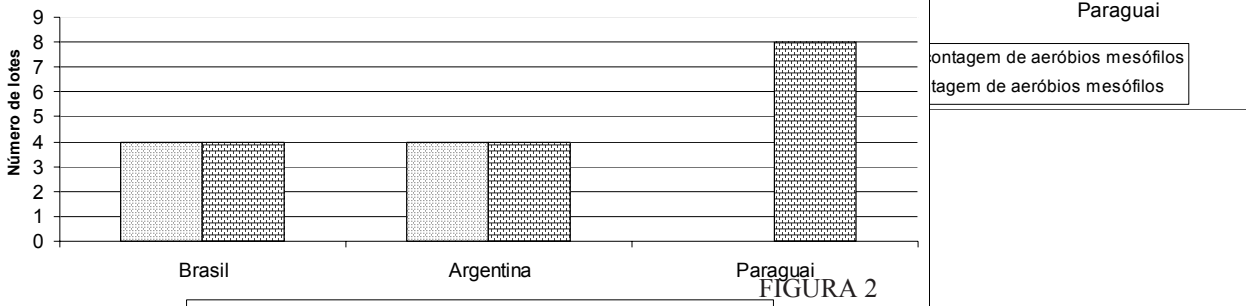
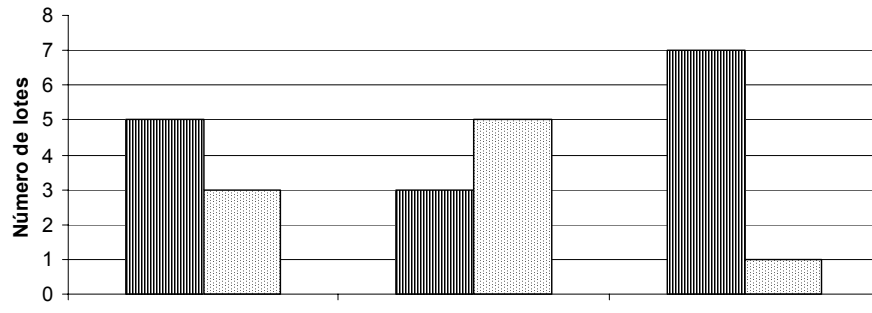


FIGURA 2
Contagem total de aeróbios psicrotóxicos em amostras coletadas em três países do Mercosul (Brasil, Argentina e Paraguai) analisadas entre os meses de setembro a novembro de 2008

□ n. lotes dentro dos padrões microbiológicos para contagem de psicrotóxicos.
■ n. lotes fora dos padrões microbiológicos para contagem de psicrotóxicos

Valor de referência: máximo de 10% de microrganismos psicrotóxicos em relação a contagem de mesófilos.

DISCUSSÃO

Os valores médios (06 valores) de teor de gordura para as 04 marcas (100%) do Brasil estavam acima do mínimo aceitável (Tabela 1). Neste estudo, ao analisarmos os valores médios de teor de gordura das marcas dos três países encontrou-se abaixo dos padrões determinados pela legislação 75% das amostras da Argentina e 25% do Paraguai (Tabela 1). As 04 marcas (100%) do Brasil estavam acima do mínimo aceitável (Tabela 1).

Quando comparamos os três países, houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre Brasil e Argentina. Diversos autores (36,37,38,22) ao analisarem amostras de leite UHT em diferentes estados brasileiros, encontraram todas as amostras testadas dentro dos padrões estabelecidos para a porcentagem mínima (3%) de gordura estabelecida pela legislação. Já no estado de Minas Gerais (Brasil) (39) encontraram 18% das amostras de leite UHT analisadas com menos de 3% de gordura.

Existem diversos fatores que podem afetar a porcentagem de gordura no leite, tais como, o alto teor de concentrados na dieta, alimentos muito moídos ou de rápida degradação ruminal, mudanças bruscas na dieta, estresse térmico e falta de conforto(24) ou ainda o desnate, que pode ser confirmado nas amostras que apresentaram valores inferiores aos padrões para extrato seco total e normal para extrato seco desengordurado. Também o baixo teor de gordura pode ser resultado da ação das enzimas lipolíticas produzidas pelos microrganismos psicrótróficos. As lipases produzidas pelas bactérias psicrótróficas são resistentes à temperatura empregada na pasteurização e no tratamento com ultra alta temperatura (UHT). Portanto, essas enzimas apresentam grande importância na qualidade e na vida de prateleira de produtos lácteos como queijo, leite UHT e creme de leite (24).

Os valores de pH dos leites analisados variaram entre 6,47 e 7,11. Os valores médios de pH das marcas de leite do Brasil encontraram-se em conformidade com a legislação vigente aos países do Mercosul; 50% das marcas da Argentina estavam abaixo do mínimo aceitável. Já, 75% das marcas do Paraguai encontraram-se acima do aceitável (Tabela 2). Quando comparamos estatisticamente o pH das amostras analisadas entre os três países estudados, não foi observada diferença significativa entre Brasil e Paraguai. Ao compararmos Brasil com Argentina e Argentina com Paraguai, encontrou-se diferença significativa entre os países para o parâmetro estudado ($p < 0,01$).

O decréscimo no pH reflete a progressiva liberação de prótons hidrogênio, revelando instabilidade iônica que pode comprometer as propriedades do leite UHT. São apontados como possíveis causas os deslocamentos no equilíbrio salino, como a insolubilização de fosfato de cálcio, além da Reação de Maillard e de eventual desfosforilação da caseína (40).

Pode-se notar na Tabela 3 que 100% das amostras de leite de cada um dos países em estudo, estavam de acordo com os parâmetros de acidez titulável, estabelecidos pela legislação. Resultados semelhantes foram encontrados no Brasil (21), onde os autores analisaram 150 amostras de leite UHT e todos os resultados obtidos estavam dentro dos padrões estabelecidos pela legislação. Resultados diferentes deste estudo foram encontrados em leite UHT em alguns estados brasileiros onde os autores encontraram em média 25% das amostras foram dos padrões legais para a acidez titulável (39,41,42).

O EST ou matéria seca representa todos os componentes do leite menos a água e o ESD correspondem aos componentes do leite menos a água e a gordura. Para o ESD, 75% das marcas do Brasil e 100% das marcas da Argentina e do Paraguai apresentaram-se abaixo dos padrões estabelecidos, indicando redução no teor dos sólidos do leite como proteínas e lactose (Tabela 4). Quanto à comparação entre os três países, não houve diferença significativa para o parâmetro EST e para o ESD houve diferença significativa ($p > 0,01$) apenas entre Brasil e Paraguai. O resultado de EST está relacionado intimamente com a densidade e o teor de gordura do leite, pois um leite pobre em matéria seca terá uma densidade baixa. Porém, é preciso qualificar essa afirmação, pois um leite com teor de gordura elevado terá a densidade mais baixa, e um leite com um baixo teor de gordura terá a densidade mais alta (43).

Em trabalho semelhante, autores verificaram que todas as amostras de leite UHT para ESD estavam abaixo do padrão estabelecido pela legislação (21). Em Juiz de Fora (Brasil- Minas Gerais) (44), além do EST, o ESD também foi responsável por colocar 33% e 58% das amostras, respectivamente, em desacordo com a legislação ao referente país.

Quanto à estabilidade ao etanol, no Brasil 100% das amostras apresentaram instabilidade ao etanol a 80%. Somente um lote de uma amostra foi instável a todas as concentrações de etanol testadas (68%, 72%, 76% e 80%). Das marcas analisadas da Argentina, somente um (25%) foi instável ao etanol a 80% e 1 lote desta marca apresentou instabilidade a partir do etanol a 72%. Nas amostras analisadas do Paraguai apenas 1 lote de uma amostra apresentou-se instável a partir do etanol a 72% (Tabela 5.) Assim, os resultados observados neste trabalho demonstram que os leites analisados exibiram resistência ao etanol a 68% em todas as marcas analisadas dos três países, exceto um lote de uma das marcas (25%) das amostras do Brasil.

Em São José do Rio Preto (21) avaliaram os efeitos do processamento UHT sobre as características físico-químicas do leite, e verificaram que, todas as amostras testadas se mostraram estáveis na prova do álcool 68%, obedeceram aos parâmetros gordura e acidez, porém com relação ao ESD nenhuma das amostras atendeu ao estabelecido pela legislação brasileira.

Estudos apontaram o valor do teste pela similaridade observada entre a instabilidade induzida pelo etanol e a

instabilidade induzida pelo processamento UHT, uma vez que o leite com baixa qualidade higiênica durante a sua produção pode apresentar redução no pH pela fermentação da lactose em ácido láctico, resultando assim na maior instabilidade da proteína (45). O complexo coloidal entre cálcio, fosfato e caseinato tem a sua estabilidade afetada durante o tratamento térmico e que há uma perda gradual da estabilidade ao etanol (46).

O uso de outras concentrações de álcool deve ser avaliado cada caso em particular em função do tipo de produto a ser fabricado e dos sistemas de produção. A concentração do álcool é proporcional ao rigor com que se deseja submeter o leite ao tratamento térmico (17).

A acidez elevada do leite é o principal fator que diminui a estabilidade térmica do leite, porém, a perda da estabilidade pode ocorrer em leites não ácidos, ou seja, com acidez titulável abaixo de 18° D, determinando a ocorrência do produto conhecido como leite instável não ácido (LINA) (47). Na maioria dos casos, o leite com essas alterações é interpretado erroneamente como leite ácido, penalizando o produtor sem que ele possa identificar o que está acontecendo no rebanho. Por outro lado, acredita-se que caso esse tipo de leite chegue à indústria ele não resista ao tratamento térmico, especialmente o UHT (48).

Os valores médios de densidade apresentaram-se abaixo de 1.028 para uma das marcas (25%) da Argentina e para 75% das marcas do Paraguai. Ao compararmos estatisticamente os três países houve apenas diferença significativa ($p < 0,01$) entre Brasil e Paraguai (Tabela 6). Diferentes trabalhos realizados no Brasil com leite constataram valor de densidade dentro do intervalo estabelecido pela legislação (49, 50). O teste da densidade pode ser útil na detecção de adulteração do leite, uma vez que a adição de água causa diminuição da densidade, enquanto a retirada de gordura resulta em aumento da densidade, além de fornecer importante informação para determinação do extrato seco total, juntamente com a porcentagem de gordura no leite (26).

Na análise do parâmetro da crioscopia 2 marcas (50%) da Argentina e uma (25%) do Paraguai apresentaram valores médios acima dos valores padrões do requisito oficial (Tabela 7). A crioscopia do leite corresponde à medição do ponto de congelamento ou da depressão do ponto de congelamento do leite em relação ao da água. O ponto de congelamento é a característica mais constante do leite e é usada para detectar principalmente adulterações com água (26).

Ao compararmos os parâmetros de gordura (Tabela 1), densidade (Tabela 6) e IC (tabela 7) pode-se observar que nas amostras analisadas da Argentina a marca 4 apresentou os três parâmetros em questão fora dos limites permitidos pela legislação, indicando redução no teor de gordura e adição de água. Na marca 2 a gordura e o I.C. estavam fora dos padrões mas a densidade não indicou adição de água e não houve

redução no teor de gordura, permitindo-se assim a suspeita da adição de um reconstituente de densidade. A densidade do leite é o peso específico do leite, cujo resultado depende da concentração de elementos em solução e da porcentagem de gordura (24).

Quanto às análises microbiológicas, nas marcas de leite analisadas do Brasil foram encontrados 03 lotes (37,5%) não estavam de acordo com os critérios microbiológicos e tolerância do leite UHT. A variação da contagem total de mesófilos foi entre $1,0 \times 10^1$ a $3,1 \times 10^4$ UFC/ml. Nas marcas de leite da Argentina, conclui-se que 05 lotes analisados (62,5%) estavam em desacordo com os critérios microbiológicos e tolerância do leite UHT. Os valores observados variaram de $5,0 \times 10^1$ a $2,3 \times 10^4$ UFC/ml. Nos leites comercializados no Paraguai, observou-se que apenas um dos lotes analisados (12,5%) estava em desacordo com os critérios microbiológicos e tolerância do leite UHT. Os valores observados variaram entre $1,0 \times 10^1$ e $1,7 \times 10^2$ UFC/ml.

Deve-se ressaltar que o processamento térmico aplicado ao leite UHT pode ser capaz de reduzir, mas não de eliminar a carga microbiana encontrada no leite *in natura*. Assim, mediante o número de microrganismos mesófilos encontrados neste estudo, entende-se que a matéria prima utilizada para processamento do leite UHT poderia não dotar de boa qualidade microbiológica ou ainda, associando este fator a problemas no tratamento térmico e/ou integridade das embalagens utilizadas no armazenamento destes leites. Em trabalhos realizados em alguns estados brasileiros, determinando a contagem de mesófilos em leite UHT, autores encontraram 22,7% e 30% das amostras fora do padrão estabelecido pela legislação brasileira (28,29).

Tratando-se dos resultados da contagem total de psicotróficos, em relação às marcas de leite do Brasil e da Argentina, conclui-se que 04 lotes (50%) (Figura 2) não estão de acordo com os critérios microbiológicos e tolerância considerados ideais para o leite (32). O leite deve apresentar no máximo 10% de microrganismos psicotróficos, em relação a contagem total de aeróbios mesófilos (32).

Os valores encontrados de psicotróficos para as amostras do Brasil variaram entre $1,0 \times 10^2$ e $2,0 \times 10^4$ UFC/ml. E para as amostras da Argentina, os valores observados oscilaram de $4,0 \times 10^2$ a $4,3 \times 10^3$ UFC/ml. Em relação às marcas de leite do Paraguai, observa-se que os oito lotes analisados (100%) apresentaram mais que 10% de microrganismos psicotróficos, em relação a contagem total de aeróbios mesófilos. Os valores variaram entre $5,0 \times 10^2$ e $9,8 \times 10^5$ UFC/ml.

A presença de microrganismos psicotróficos em leite UHT tem origem na carga inicial de microrganismos no leite cru, obtido com falhas na higiene de produção. As contagens destes microrganismos encontradas nas amostras estudadas podem estar relacionadas a presença de microrganismos termorresistentes (termodúricos) com capacidade de

crescimento a temperatura de refrigeração ou a falhas no tratamento térmico empregados as amostras avaliadas.

CONCLUSÃO

Quanto às análises físico-químicas, os leites produzidos na Argentina e no Paraguai apresentaram-se fora dos padrões determinados pela legislação nos seguintes parâmetros pesquisados: densidade, crioscopia, gordura e pH. O extrato seco desengordurado (ESD) apresentou-se abaixo dos padrões determinados pela legislação nas amostras dos três países estudados. As alterações físico-químicas encontradas indicam problemas na qualidade do leite cru e/ou adulterações durante processamento do leite.

As análises de acidez titulável indicaram que todas as amostras estavam dentro dos padrões da legislação vigente. Quanto à estabilidade ao etanol, todas as marcas analisadas dos três países apresentaram resistência ao etanol a 68%, exceto um lote de uma das marcas das amostras do Brasil.

Nas análises microbiológicas, a contagem de aeróbio mesófilos encontrou-se fora dos padrões em 37,5%, 62,5% e 12,5% dos lotes analisadas do Brasil, Argentina e Paraguai, respectivamente. O resultado das contagens de psicotróficos obtidos fora dos padrões foi de 50%, 50% e 100% para as amostras coletadas do Brasil, Argentina e Paraguai, respectivamente. As alterações microbiológicas encontradas indicaram que existem problemas na qualidade do leite UHT, seja originada da qualidade da matéria prima e/ou no tratamento térmico aplicado a estes produtos.

REFERÊNCIAS

- Borges MF, Brandão SCC, Pinheiro AJ. Efeito bactericida do peróxido de hidrogênio sobre salmonela em leite destinado a fabricação de queijos. *Rev Microbiol.* 1989; 20 (2): 145-149.
- Furtado MAM, Vilela MAP, Meurer VM, Barbosa F A. Anais do XXII Congresso Nacional de Laticínios. Juiz de Fora, 2004. p. 130-131.
- Jay James M. *Microbiologia de alimentos.* 6ed. Porto Alegre: Editora Artmed, 2005. 709 p.
- Pelczar MJ, Chan ECS, Krieg NR. *Microbiologia - Conceitos e Aplicações.* 2ed. Volume 1. São Paulo: Editora Makron Books, 1996.
- Ferreira Márcia de Aguiar. Dossiê técnico - Análises Microbiológicas para Qualidade do Leite Fluido. In: Centro de Apoio ao Desenvolvimento Tecnológico da Universidade de Brasília – CDT/UnB, 2007. Disponível em: <<http://www.sbrt.ibict.br>>. Acesso em: 20 ago. 2008.
- Law BA. Reviews of the progress of dairy science: enzymes of psychrotrophic bacteria and their affects on milk and milk products. *J Dairy Res.* 1979; 46: 573-588.
- Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento-MAPA. Instrução Normativa n.º 51 de 18 de setembro de 2002. Brasília, 2002.
- Smithwell N, Kailasapathy K. Psychrotrophic bacteria in pasteurized milk: problems with shelf life. *Aust J Dairy Technol.* 1995; 50: 28-31.
- Bishop JR, White CH. Estimation of potencial shelflife of pasteurized fluid milk utilizing bacterial numbers and metabolites. *J Food Prot.* 1998; 48: 663-667.
- Craven HM, Macauley BJ. Microorganisms in pasteurized milk after refrigerated storage. 2. Seasonal variation. *Aust J Dairy Technol.* 1992; 47: 46-49.
- Muir DD. The fresh- life of Dairy Products: 1. Factors influencing raw milk and fresh products. *J Soc Dairy Technol.* 1996; 49 (1): 24-32.
- Sorhaug T, Stepianiak L. Psychrotrophs and their enzymes in milk and dairy products: Quality aspects. *Trend Food Sci Tech.* 1997; 8: 35-41.
- Cousin MA. Presence and activity of psychrotrophic microorganisms in milk and dairy products: a review. *J Food Prot.* 1982; 45(2); 172-20.
- American Public Health Association. Milk and milk products. In: *Compendium of methods for the microbiological examination of foods.* Washington: APHA. 1992:837-856.
- Hill A. Quality of ultra-high-temperature processed milk. *Food Technol* 1988; 12(9): 92-97.
- Cunha MF. Revisão: Leite UHT e o fenômeno de Geleificação. B. CEPPA, Curitiba, v. 19, n 2 , p 341-352, 2001.
- Tronco VM. Manual para inspeção da qualidade do Leite. 2 ed. Santa Maria: UFSM, 2003.
- Brasil, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria Nº 146, de 07 de março de 1996. Regulamento técnico para fixação da identidade e qualidade do leite UHT. Brasília, 2002.
- ABLV. Associação Brasileira do Leite Longa Vida. Leite Longa Vida está Presente em 87% dos lares Brasileiros. 2009. Disponível em:< <http://www.ablv.org.br/25-Releases-Leite-Longa-Vida-esta-presente-em- aspx>>. Acesso em 2 de maio de 2010.
- Gava AJ. *Princípios de tecnologia de alimentos.* São Paulo: Nobel, 2007.
- Martins AMCV, Rossi Junior OD, Salotti BM, Bürger KP, Cortez ALL, Cardozo MV. Efeito do processamento UHT (Ultra Alta Temperatura) sobre as características físico-químicas do leite. *Ciênc Tecnol Aliment.* 2008; 28 (2): 1-4.
- Rocha AAR. Consumo de leite aumenta e continuará crescendo. Com impulso de emergentes, consumo global de leite cresce. 2009. Disponível em: <<http://www.abiq.com.br/associados/noticia11.asp>>. Acesso em 12 de abril de 2010.
- Silva PHF da, Pereira DBC, Costa Júnior LCG. *Físico-Química do Leite e Derivados Métodos Analíticos.* Juiz de Fora: Oficina de Impressão Gráficas e Editora Ltda. 1997.
- Santos MV, Fonseca LFL. *Qualidade do Leite e Controle de Mastite.* São Paulo: Lemos Editorial, 2000. 175 p.
- Oliveira AJ, Caruso JAB. *Leite- Obtenção e qualidade dos produtos fluídos e Derivados.* 2 ed. Piracicaba-SP: Editora Fealq, 1996.
- Embrapa, *Composição do Leite.* 2007. Disponível em:< http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Agencia8/AG01/arvore/AG01_128_21720039243.html>. Acesso em: 12 mar. 2010.

27. Embrapa, Qualidade do Leite. 2005. Disponível em:< <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Leite/GadoLeiteiroZonaBragantina/paginas/qualidade.htm>>. Acesso em: 17 mar. 2010.
28. Martins AMCV, Rossi Junior OD, Lago NCR. Microrganismos heterotróficos mesófilos e bactérias do grupo do *Bacillus cereus* em leite integral submetido a ultra alta temperatura. *Arq Bras Med Vet Zootec.* 2005; 57(3):396-400.
29. Rezende NCM, Rossi Júnior OD, Nader Filho A, Amaral LA. Ocorrência de microrganismos indicadores em leite UHT (ultra-high-temperatur) integral. *R Bras Ci Vet.* 2000; 7(1):58-60.
30. Coelho PS, Silva N, Brescia MV, Siqueira AP. Avaliação da qualidade microbiológica do leite UAT integral comercializado em Belo Horizonte. *Arq Bras Med Vet Zootec.* 2001;53(2):1-7.
31. Association of Official Analytical Chemists. Official methods of analysis. 16.ed. 3 ed. Maryland, 1997.
32. Brasil, Instrução normativa n.º 68 de 12 de dezembro de 2006. Brasília, 2006.
33. Mercosul/Grupo Mercado Comum/ Resolução N° 78/94-Regulamento Técnico Mercosur de Identidad y Calidad de la Leche UHT. Argentina, Brasil, Paraguai e Uruguai, 1995.
34. Brasil. Ministério da Agricultura. Portaria n° 146, 07 de março de 1996. Regulamento técnico de identidade e qualidade do leite UAT (UHT). Disponível em:<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegisconsulta/servlet/visualizarAnexo?id=4349> Acesso em: 29 set. 2009.
35. Brasil. Ministério da Agricultura. Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem animal- RIISPOA. Brasília,1976.
36. Santos MG. Avaliação da qualidade do leite UHT durante o período de estocagem. 2006. Disponível em<<http://www.semesp.org.br/portal/pdfs/2006/1000002465.pdf>>. Acesso em: 24 set. 2009.
37. Caldeira A, Junior VRR, Melo LM, Fonseca CM, Oliveira LLS, Chauca MNC, Silva FV. Avaliação da qualidade físico-química de leite UHT comercializado em Jarnaúba(MG). 2009. Disponível em:< <http://www.fepeg.unimontes.br/evento2009/index.php/fepeg/fepeg2009/paper/viewFile/452/317> >. Acesso em: 28 dez. 2009.
38. Souza LG, Santos GT, Sakaguti, S, Damasceno JC, Matsushita M, Horst JÁ, Villalba RG. Avaliação da Composição do leite UHT provenientes de dois Laticínios da Região Norte e Noroeste do Paraná. 2004. Disponível em:< <http://periodicos.uem.br/ojs/index.php/ActaSciAnimSci/article/viewArticle/1875>> Acesso em: 22 fev. 2010.
39. Andrioli AS, Furtado MAM, Vilela MAP, Meurer VM. Padrões físico-químicos de identidade e qualidade do leite UHT comercializado na cidade de Juiz De Fora, MG. Anais do XVIII Congresso Nacional de Laticínios. Juiz de Fora, p.373-378, 2004.
40. Renner E, Schmidt RH. Chemical and physico –chemical aspects. In: International Dairy Federation. New monograph on UHT milk. Brussels, 1981. p.49-64.
41. Silva AHI, Gonçalves TM, Souza JFF, Filho JSS, Filho JRF. Efeito da Fervura, Resfriamento e Congelamento na Qualidade físico-química de Diferentes Tipos de Leite. 2009. Disponível em :<<http://www.eventosufrpe.com.br/jepex2009/cd/resumos/R0352-1.pdf>>. Acesso em: 10 maio 2010.
42. Martins FO, Silvia CAO, Campos MEM, Antunes VC, Milagres MP, Brandão SCC. Avaliação da composição, da qualidade físico-química e ocorrência de adulterações em leite UHT. 2006. Disponível em< <http://www.terraviva.com.br/IICBQL/p043.pdf>>Acesso em: 6 maio 2010.
43. Luquet FM. Leche y Productos lácteos vaca- oveja - cabra. Vol. 1- La leche. De La mama a La lecheria. Zaragoza-España: Editorial Acribia S. A., 1991, 390p.
44. Silva PHF. Leite UHT: fatores determinantes para sedimentação e geleificação. Juiz de Fora: Oficina de Impressão Gráficas e Editora Ltda. 2004.
45. Horne DS. Ethanol stability. In: FOX, P.F. Advanced dairy chemistry. London: Chapman & Hall, 1992.
46. Harwalkar VR. Age gelation of sterilized milks. In: FOX, P.F. Advanced dairy chemistry. London: Chapman & Hall, 1997.
47. Lopes LC. Composição e características físico-químicas do leite instável não ácido (LINA) na região de Casa Branca, estado de São Paulo. 2008 Disponível em:< <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/74/74131/tde-29042008-103024/>>. Acesso em: 20 fev. 2010.
48. Balbinotti M, Marques LT, Fischer V, Ribeiro MER, Stumpf W, Reckziegel FJ, Carbonari C, Varela M. Incidência do leite instável não ácido(LINA) na região sul do Rio Grande do Sul. *Revista Brasileira Agrociência*, v.13, n1, p.91-100, janeiro/março, 2005.
49. Soares DX, Zuppa T O, Rodovalho E. Avaliação das características físico-químicas do leite ultra pasteurizado (UHT). 2008. Disponível em: <<http://www.prp.ueg.br/06v1/conteudo/pesquisa/inic-cien/eventos/sic2007/flashsic2007/arquivos/resumos/resumo17.pdf>> Acesso em: 10 dez. 2009.
50. Rossi Junior OD. Estudo das características microbiológicas do leite UHT ao longo de seu processamento. Arquivo do Instituto de Biologia. 2006;73(1):27-32.

Recibido: 23-04-2010

Acceptado: 23-08-2010

El glaseado incorporando hidrocoloides como alternativa en el empaque de lomo de atún (*Thunnus thynnus*) congelado y almacenado a -10°C

Sarahi Mena, Leonardo Rodríguez y Marinela Barrero

Facultad de Ciencias, Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos, Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela

RESUMEN. Numerosos estudios han sido enfocados a los ingredientes naturales para mantener la calidad y la vida útil de los alimentos. Los ingredientes biodegradables, tales como hidrocoloides y proteínas pueden ser utilizados para cubrir filetes de pescado con el objetivo de suprimir los cambios de calidad durante el almacenamiento en congelación. En la actualidad se han venido desarrollando empaques comestibles, como el glaseado con hidrocoloides, (gelatina, carragenina), que además de cumplir sus funciones como película protectora del alimento, son económicos, pueden ser ingeridos por el consumidor sin riesgo de toxicidad, ayudan a preservar las características organolépticas del producto, proporcionar características nutricionales y, por ser biodegradables contribuyen a la conservación del ambiente. El objetivo del presente estudio fue evaluar la incorporación de hidrocoloides al glaseado de lomos de atún como una alternativa de empaque. Cortes de atún fueron glaseados incorporándole soluciones de carragenina 0,05, y 0,15%, y gelatina al 0,5, 1%. Los cortes fueron de 15 cm³, congelados a -30°C y glaseados con los tratamientos mencionados sumergiéndose la muestra de atún en las soluciones a 0 °C por 30 segundos y luego almacenados a -10°C por 0, 15 y 30 días. Los resultados del análisis proximal, las proteínas solubles, rancidez oxidativa, y color mostraron que todas las muestras glaseadas con hidrocoloides mantienen sus características y protege al lomo de atún ante la pérdida de humedad y retrasa la degradación de las proteínas. De igual manera la carragenina mostró un mejor desempeño como empaque a concentraciones de 0,05% en comparación con la gelatina.

Palabras clave: Atún, empaques comestibles, proteínas, *Thunnus thynnus*, hidrocoloides.

INTRODUCCION

El empaque de los alimentos es uno de los principales factores para prevenir su deterioro además de facilitar su distribución y mercadeo. La industria de alimentos involucra gran variedad de materiales de empaque los cuales crean un

SUMMARY. Tuna (*Thunnus thynnus*) glazed with hydrocolloids as alternative of edible coatings and stored at -10°C. Numerous studies have been focused to natural ingredients to maintain the quality and shelf life of foods. Edibles coating, biodegradable ingredients, such as hydrocolloids and proteins can be used for coating fish with the purpose to suppress changes of quality during frozen storage. At the present time several developing of edibles packing, like glaze using hydrocolloids, (gelatin, carrageen, starch), that besides acts as protective film for food, they are economic, can be ingested by the consumer without toxicity risk, help to preserve organoleptics and nutritional characteristics of the product and, being biodegradable they contribute to the conservation of the atmosphere. The objective of the present study was to evaluate the incorporation of hydrocolloids in the glazing tuna process as alternative of packing, to enhance its physical and chemical characteristics. Samples of tuna was glazed incorporating to its solutions of carrageen at 0.05, 0,1 and 0.15%, and gelatin at 0.5, 1%. The samples were shaped as square (15 cm³), frozen al -30°C and glazed incorporating hydrocolloids submerging the sample its solutions at 0 °C by 30 seconds and storage at -10°C by 0, 15 and 30 days. Proximal analysis results, soluble proteins, TBA, and color showed that all the samples glazed with hydrocolloids decrease deterioration of the tuna products respect to samples glazed without hydrocolloids; concluding that glazing adding hydrocolloids protects tuna for loss humidity and delays degradation of proteins. Moreover, carrageen shows to a better performance at the concentrations of 0.05% compared with the gelatin and the starch.

Key words: *Thunnus thynnus*, proteins, edible coating, tuna, hydrocolloids.

problema en cuanto a volúmenes de desperdicios de desechos sólidos y por tanto problemas ambientales. El desarrollo de películas comestibles y/o biodegradables podría ser una alternativa para el reemplazo parcial de las películas poliméricas sintéticas ofreciendo un beneficio para el procesador y consumidor (1). Varios polímeros biodegradables, naturales tales como proteínas, y películas comestibles provenientes de polisacáridos podrían servir como potenciales materiales de empaque que contribuyan con la preservación del ambiente. Las películas comestibles poseen propiedades funcionales y de barrera a solutos y gases que ayudan a prolongar la vida útil de los alimentos. En la

Estudio enmarcado dentro del Proyecto de investigación titulado "El empaque del lomo de atún aleta azul (*Thunnus thynnus*) como alternativa para aumentar el tiempo de vida en el almacenamiento congelado" CDCH PG-03-6503-2006.

actualidad, se han venido desarrollando empaques alternativos; muestra de ellos, es el uso de empaques comestibles incorporando hidrocoloides, como la gelatina, la carragenina y el almidón, siendo utilizados en frutas, vegetales y carnes. Estos, además de cumplir sus funciones como película protectora del alimento, son más económicos, pueden ser ingeridos por el consumidor sin riesgo de toxicidad para el organismo y proporcionan un aporte nutricional, ya que son fuente de proteínas y carbohidratos. Además, por ser biodegradables, contribuyen a la conservación del ambiente, ayudan a preservar el olor y el sabor de los alimentos y proporcionan un aspecto más atractivo para el consumidor. A nivel mundial, es poco utilizada la tecnología de empaques comestibles, tampoco se conoce que poseen características beneficiosas, tanto por su capacidad de conservar los alimentos, como por los procesos de su obtención; de igual manera, se desconocen a nivel comercial los diferentes tipos que existen y sus características (2 y 3). Las principales propiedades de los hidrocoloides son su capacidad para producir soluciones altamente viscosas a bajas concentraciones por lo que se reducen los costos de producción; además, sus propiedades los hacen convenientes en una amplia variedad de aplicaciones en la industria de alimentos, ya que son de fácil disponibilidad y no son tóxicos. Los hidrocoloides no constituyen un producto entero y acabado, ya que a menudo son utilizados como aditivos para controlar, incrementar o modificar las propiedades de un sistema alimenticio (1,4,5).

El Atún (*Thunnus sp*) representa una especie de gran importancia comercial a nivel mundial, siendo consumido fresco en productos como el sushi y el ceviche, o procesado en productos como el surimi y en conservas. Por ser el pescado un alimento con gran aporte proteico, y a la vez, muy perecedero, el procedimiento más comúnmente utilizado para su conservación fresco es la congelación, como medida preventiva del deterioro de origen microbiano y descomposición química, lo cual conlleva a la pérdida de humedad, la rancidez de lípidos y a la desnaturalización de proteínas. Otro método alternativo empleado en los procesos de conservación es el uso de empaques, los cuales deben garantizar la estabilidad y prolongar la vida útil del producto que contiene, actuando como barrera protectora de microorganismos, gases, agentes químicos y mecánicos (6-8). En el Atún, las proteínas miofibrilares se desnaturalizan entre 20% y un 30 % incluso estando frescos, lo que representa un descenso de la extractabilidad y una menor solubilidad de la proteína miofibrilar, la cual varía en función de la temperatura y el pH del músculo. Durante la congelación las propiedades del músculo, tales como la capacidad de emulsión, la capacidad de unión a lípidos, la capacidad de retención de agua y la capacidad de gelificación disminuyen, siendo mucho menores que en el pescado fresco. La causa principal de estos cambios de calidad del músculo puede encontrarse en la

desnaturalización de las proteínas, especialmente las miofibrilares. Los pescados grasos son más estables que los magros durante la conservación en congelación, dependiendo de la estación del año y las condiciones biológicas, tales como su composición química y sexual en el pescado (9-11). El almacenamiento inapropiado durante la congelación resulta en una desnaturalización de las proteínas, como la actina y la miosina, lo que se evidencia en cambios en la textura y el sabor (12-14). El proceso de congelación puede ser por inmersión o glaseado, el cual se conoce como la aplicación de una capa de hielo sobre la superficie de un producto congelado, por rocío o por inmersión en agua potable con o sin aditivos permitidos. Esta técnica es ampliamente aplicada para proteger el producto de la deshidratación y reducir la oxidación, y es una de las más utilizadas, a nivel mundial en la preservación de productos pesqueros. El glaseado constituye una barrera protectora que impide que el producto sufra las consecuencias de cualquier cambio de temperatura y humedad, a las cuales puede verse sometido durante la comercialización (15, 16). La duración del glaseado en el pescado dependerá, de la temperatura del pescado, el tamaño y la forma del producto, y de la frecuencia o veces de inmersión, así como el agua de glaseado y los agentes químicos como los hidrocoloides, los cuales son útiles para reducir la fragilidad o la tasa de evaporación del glaseado. (17). Los empaques en alimentos son uno de los factores principales para prevenir el deterioro de su calidad y facilitar la distribución. Los empaques o cambios en los materiales de empaque reducirán los efectos de estos sobre el ambiente (Han, 2005 citado por 18). El objetivo del presente estudio fue evaluar el glaseado incorporando hidrocoloides; carragenina, y gelatina como una alternativa de empaque en el lomo de Atún (*Thunnus sp*) congelado y almacenado a bajas temperaturas.

MATERIALES Y METODOS

Se utilizó la especie atún (*Thunnus sp*), el cual fue obtenido fresco en el Mercado Mayorista de Quinta Crespo, Caracas, durante los meses de marzo y septiembre. El mismo se trasladó en cavas con hielo hasta el Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos (ICTA) de la Universidad Central de Venezuela, en donde, los lomos adquiridos, fueron cortado en trozos de 15 cm³ congelados a -30°C en un congelador de placas marca Dole, modelo Freze-Cel. Luego los trozos fueron glaseados con los diferentes hidrocoloides. Las soluciones de glaseados con hidrocoloides fueron las siguientes: Carragenina, marca CP Kelco, type MB-151 F, soluciones de 0,05 y 0,15%; Gelatina comercial sin ningún sabor o aditivo, adquirido en un supermercado, al 0,5 y 1%. Las soluciones se elaboraron en caliente y luego de disueltas se enfriaron hasta a 0°C en un congelador de placas marca Dole, modelo Freeze-Cel. Las muestras de atún previamente congeladas se colocaron en la

solución de glaseado por 30 segundos. Luego fueron colocadas en bolsas con cierre hermético y almacenadas a -10°C durante 0, 15 y 30 días.

Métodos de análisis químico

Humedad: Por pérdida de peso en exposición en la estufa a $100 \pm 5^{\circ}\text{C}$ según el método 967.03 AOAC (19).

Proteínas Solubles: Las proteínas solubles en solución salina se determinaron según la metodología señalada por Barrero y col. (20) y Montecchia y col. (21). Se homogeneizaron 8 g de músculo, por 1 minuto, en 160 ml de solución fría de Buffer 0,6 moles/L KCl y 0,003 moles/L NaHCO_3 , pH 7; se centrifugaron en frío a 5000 r.p.m durante 20 minutos, se extrajo el sobrenadante el cual contiene las proteínas solubles en solución salina. Este sobrenadante se utilizó en la determinación del contenido de proteínas totales por el método Microkjendahl (proteína total extraíble en solución salina) 955.04, 988, AOAC (10).

Líquido exprimible

Se colocó 10 g de muestra homogeneizada en un tubo de centrifuga de 25 mL y luego fue centrifugada a 5.000 rpm por 20 min., manteniendo la temperatura a 2°C , en un equipo "Sorvall", modelo RC2-B con un rotor SS-34 (Sorvall, Wilmington, DE). El volumen de líquido sobrenadante contenido en el tubo de centrifuga se midió en un cilindro graduado de 10 mL. El resultado se expresó como mL/100g.

Color: Fue medido mediante el uso de un Colorímetro marca Hunter Lab modelo Color Flex[®] CX1819 según CieLAB, con iluminantes de 10° y observador D65. Se midió en términos de L^* (luminosidad), a^* (rojo o verde), y b^* (amarillo o azul). Los valores de L^* varían desde 0 (negro) hasta 100 (blanco), si la diferencia en el valor de L^* entre la muestra fresca y la tratada es positiva, la muestra tratada es más clara que la fresca, y si es negativa indica que es más oscura. Si la diferencia en el valor de a^* entre la muestra fresca y la tratada es positiva, la muestra tratada es más roja (menos verde) que la fresca, y si es negativa indica que es menos roja. Si la diferencia en el valor de b^* entre la muestra fresca y la tratada es positiva, la muestra tratada es más amarilla (menos azul) que la fresca, y si es negativa indica que es menos amarilla.

Electroforesis: Se realizó mediante el método SDS-Page: electroforesis de gel de dodecilsulfato-poliacrilamida de sodio (SDS-Page) el cual fue llevada a cabo de acuerdo con Hashimoto y col. (22). La extracción de proteína se realizó de acuerdo al procedimiento citado por Ashie y col. (23): 0,01 g de músculo fueron homogeneizados con solución

amortiguadora de pH y la proteína extraída fue ajustada siguiendo el método de Bradford, adaptándolo a la electroforesis en poli(acrilamida) 12 %. Las corridas electroforéticas se realizaron con un equipo Mini-Protean 3 marca Bio-Rad. Las condiciones electroforéticas fueron 160 voltios por 45 minutos. Las bandas de proteínas en los geles de poli(acrilamida), para la corrida electroforética en las muestras de atún glaseado a los 0,15 y 30 días, fueron teñidas con Coomassie brilliant blue, y desteñidas durante 24 horas con solución de ácido acético 10%, metanol 10% y agua 80%. Las bandas de las proteínas obtenidas fueron digitalizadas en un equipo Bio-Rad Multi-Analyst y analizadas con el programa Bio-Rad Multi Analyst versión 1.1. Las masas moleculares, y la densidad óptica, de las bandas obtenidas en cada uno de los geles, fueron estimadas por comparación de su movilidad con la del estándar 161-0317 SDS-PAGE Broad Range, bajo el método Doc 2000 Bio-Rad.

Rancidez oxidativa: Se determinó por el método del Ácido Tiobarbitúrico (TBA) según metodología señalada por Tarladgis y col. (24). Se homogenizaron 10 g de muestra con 50 ml de agua, durante 3 minutos a 10.000 rpm. Se transfirió a un matraz de destilación con 47 ml de agua y se añadió 5 ml de solución EDTA+ PG 25% más 2,5 ml de HCl (1:2), 1 ml de antiespumante y perlas de ebullición. El destilado recolectado se llevó a 100 ml en un balón aforado. Luego se tomó una alícuota de 5 ml y se colocó en un tubo de ensayo con tapa y luego se agregó 5 ml de solución 2-TBA (0,02 M de TBA en ácido acético 90%). Se preparó blanco con 5 ml de solución 2-TBA. Se calienta por 35 minutos en baño maría. Una vez enfriados los tubos durante 10 minutos, se midió la absorbancia contra el blanco a 538 nm. La concentración se obtiene de una curva de calibración de malonaldehído.

Análisis estadístico: Las determinaciones se realizaron por triplicado, en el músculo del pescado. Los resultados obtenidos fueron tabulados en Excel y analizados con el programa Statgraphics 5.1 mediante una prueba de ANOVA de una vía, con un nivel de significancia de $P < 0,05$, donde el tratamiento fue el glaseado, la variable dependiente el tipo de glaseado y el tiempo de almacenamiento. Las variables independientes fueron las evaluaciones físicas y químicas realizadas.

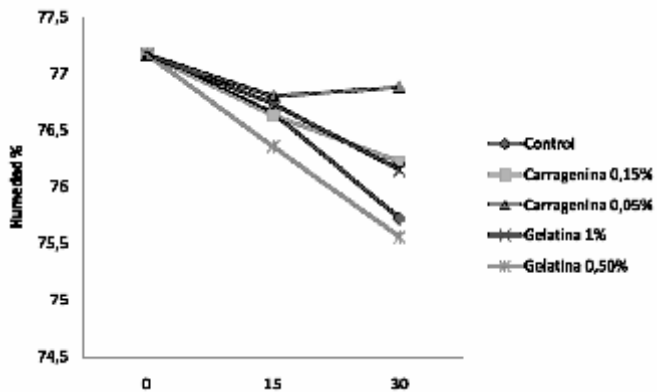
RESULTADOS

El contenido de humedad para las muestras de lomo de atún con los diferentes tratamientos de glaseado y almacenados en congelación a -10°C durante 0, 15 y 30 días, se muestran en la Figura 1. A los 15 días, los tratamientos con carragenina 0,05% y gelatina 0,50% mostraron diferencias

significativas, mientras que entre el control, carragenina 0,15%, y gelatina 1% no se observaron diferencias significativas. A los 30 días de almacenamiento a -10°C, se observaron diferencias significativas en el tiempo de almacenamiento y entre los tratamientos; sin embargo no se observaron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre los tratamientos con carragenina 0,15% y gelatina 0,50%. Las muestras que presentaron una menor diferencia en el contenido de humedad fueron las muestras glaseadas con carragenina al 0,05%.

FIGURA 1

Contenido de humedad (%±DE) en los lomos de atún (*Thunnus thynnus*) glaseados adicionando hidrocoloides y almacenados durante 30 días a -10°C



Tratamiento %	Tiempo (días)		
	0	15	30
Control	77,17 ± 0,09 ^{aa}	76,66±0,39 ^{aa}	75,72±0,20 ^{ab}
Carragenina 0,15	77,17 ± 0,09 ^{aa}	76,64±0,11 ^{ab}	76,22±0,21 ^{bc}
Carragenina 0,05	77,17 ± 0,09 ^{aa}	76,80±0,19 ^{ba}	76,88±0,54 ^{cb}
Gelatina 1	77,17 ± 0,09 ^{aa}	76,74±0,11 ^{ab}	76,15±0,15 ^{dc}
Gelatina 0,5	77,17 ± 0,09 ^{aa}	76,36±0,20 ^{cb}	75,56±0,45 ^{bc}

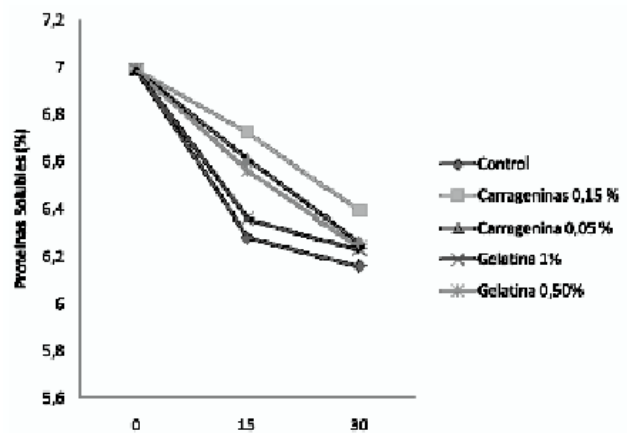
Media ± DS n=3. Superíndices iguales indican que no existen diferencias significativas. Primera letra indica diferencias significativas entre tratamientos, la segunda letra indica diferencias significativas en el tiempo ($P < 0.05$).

El contenido de proteínas solubles en solución salina para las muestras de lomo de atún con los diferentes tratamientos de glaseado y almacenados en congelación a -10 °C durante 0, 15 y 30 días, se muestran en la Figura 2. Se observa, un mejor desempeño, o mantenimiento de la solubilidad de las proteínas en el tiempo, en el tratamiento con carragenina

0,15%, seguido por el tratamiento carragenina 0,05%. A los 0 días, los tratamientos de glaseado con soluciones de carragenina al 0,15% y 0,05% y Gelatina 1% y 0,50% y control (glaseado sin hidrocoloides) no presentaron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre sí. A los 15 días todos los tratamientos presentaron una disminución significativa en proteínas solubles en comparación con tiempo cero, siendo esta disminución menor para las muestras glaseadas e incorporando carragenina. Entre los tratamientos de carragenina 0,05 % y gelatina 1% no se observaron diferencias significativas ($p < 0,05$), mientras que entre los tratamientos y el control se observaron diferencias significativas entre sí.

FIGURA 2

Contenido de proteínas solubles (% ± DE) en los lomos de atún (*Thunnus thynnus*) glaseados incorporando hidrocoloides y almacenados durante 30 días a -10°C



Tratamiento %	Tiempo (días)		
	0	15	30
Control	6,99± 0,02 ^{aa}	6,28±0,03 ^{ab}	6,16±0,01 ^{ac}
Carragenina 0,15	6,99± 0,02 ^{aa}	6,72±0,17 ^{bb}	6,39±0,09 ^{bc}
Carragenina 0,05	6,99± 0,02 ^{aa}	6,61±0,04 ^{cb}	6,26±0,02 ^{cc}
Gelatina 1	6,99± 0,02 ^{aa}	6,36±0,07 ^{cb}	6,23±0,03 ^{ac}
Gelatina 0,5	6,99± 0,02 ^{aa}	6,56±0,32 ^{db}	6,24±0,10 ^{bc}

Media ± DS n=3. Superíndices iguales indican que no existen diferencias significativas. Primera letra indica diferencias significativas entre tratamientos, la segunda letra indica diferencias significativas en el tiempo ($P < 0.05$).

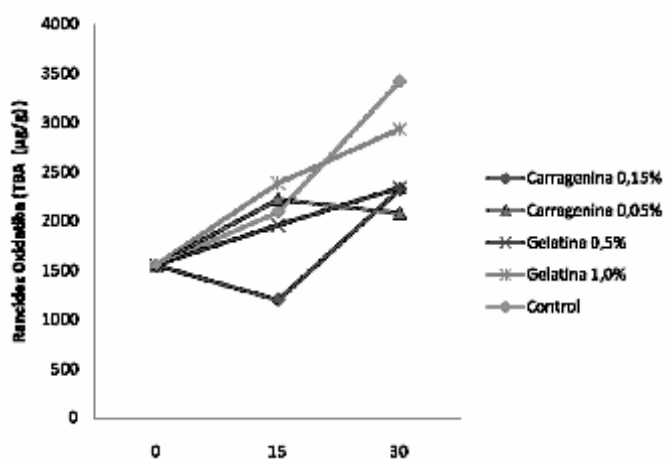
A los 30 días de almacenamiento a -10°C, se observaron diferencias significativas respecto al tiempo en todos los

tratamientos. Se observaron diferencias significativa entre el control y carragenina 0,15%, 0,05%, gelatina 1% y 0,50%; no se observaron diferencias significativa ($p < 0,05$) entre los tratamientos control y gelatina 1%.

La rancidez oxidativa en los lomos de atún (*Thunnus thynnus*) glaseados con los distintos tratamientos de hidrocoloides se muestran en la Figura 3. Se observaron aumentos significativos durante los 15 y 30 días de almacenamiento respecto a los 0 días de almacenamiento. El tratamiento más eficiente fue el tratamiento de carragenina 0,15% el cual mostró sin variación de la rancidez oxidativa hasta los 15 días de almacenamiento, luego a los 30 días se observó un aumento de ésta en 33%, los otros dos tratamientos mostraron significativamente mayores niveles de rancidez oxidativa durante los 15 y 30 días en almacenamiento.

FIGURA 3

Rancidez oxidativa como TBA ($\mu\text{g/g} \pm \text{DE}$) en los lomos de atún (*Thunnus thynnus*) glaseados incorporando hidrocoloides y almacenados durante 30 días a -10°C



Treatment (%)	Tiempo (días)		
Gelatina	0	15	30
0,50	1549,7 ± 50,23 ^{aa}	1959,80 ± 270,75 ^{ab}	2335,28 ± 44,22 ^{ab}
1,00	1549,7 ± 50,23 ^{aa}	2382,28 ± 137,64 ^{bb}	2933,06 ± 185,01 ^{bb}
Carragenina			
0,05	1549,7 ± 50,23 ^{aa}	2221,15 ± 424,26 ^{ab}	2081,42 ± 75,16 ^{ab}
0,15	1549,7 ± 50,23 ^{aa}	1201,5 ± 113,85 ^{bc}	2326,48 ± 28,64 ^{bb}
Control	1549,7 ± 50,23 ^{aa}	2092,94 ± 101,20 ^{ab}	3422,03 ± 154,03 ^{bb}

Media \pm DS, n=3. Letras iguales en una misma fila indican que no existe diferencia significativa, primera letra indica diferencias significativas entre tratamientos, la segunda letra indica diferencias significativas en el tiempo ($P < 0,05$).

En los resultados obtenidos en la evaluación del color de las muestras de los lomos de atún (Tabla 1) se observaron cambios significativos ($p < 0,05$) en los parámetros L* (luminosidad), a* (rojo o verde), y b* (menos amarillo o azul), con respecto a la muestra fresca de lomo de atún (control). En las muestras glaseadas con carragenina y gelatina se observó una tendencia a disminuir los valores L* y a* observándose una diferencia significativa entre el atún fresco y el atún con 30 días de almacenamiento; mientras que en b* no hubo diferencias significativas en el tiempo de almacenamiento.

Los resultados obtenidos en la electroforesis y los diagramas de bandas de las proteínas estudiadas fueron estimadas por comparación de movilidad y altura entre las masas moleculares del estándar (Miosina 200KDa; β -galactosidasa 116,25; Fosforilasa b 97,4 KDa; Albumina 66,2 KDa; Ovoalbúmina 45 KDa; Anhidrasa carbónica 31 KDa; Inhibidor de tripsina 21,5 KDa; Lisosyma 14,4 KDa; Aprotinin KDa 6,5), y las bandas de proteínas obtenidas en las corridas electroforéticas (SDS-PAGE) de las diferentes porciones. Los cambios observados se estudiaron de forma cualitativa observándose los perfiles electroforéticos con un aumento o disminución en la intensidad de las bandas, que pondría de manifiesto la presencia de agregados proteicos y el grado de estabilidad proteica en función del tiempo de almacenamiento y el tipo de glaseado. En la Figura 4 se observan los resultados de movilidad, altura y peso molecular obtenidos de las electroforesis.

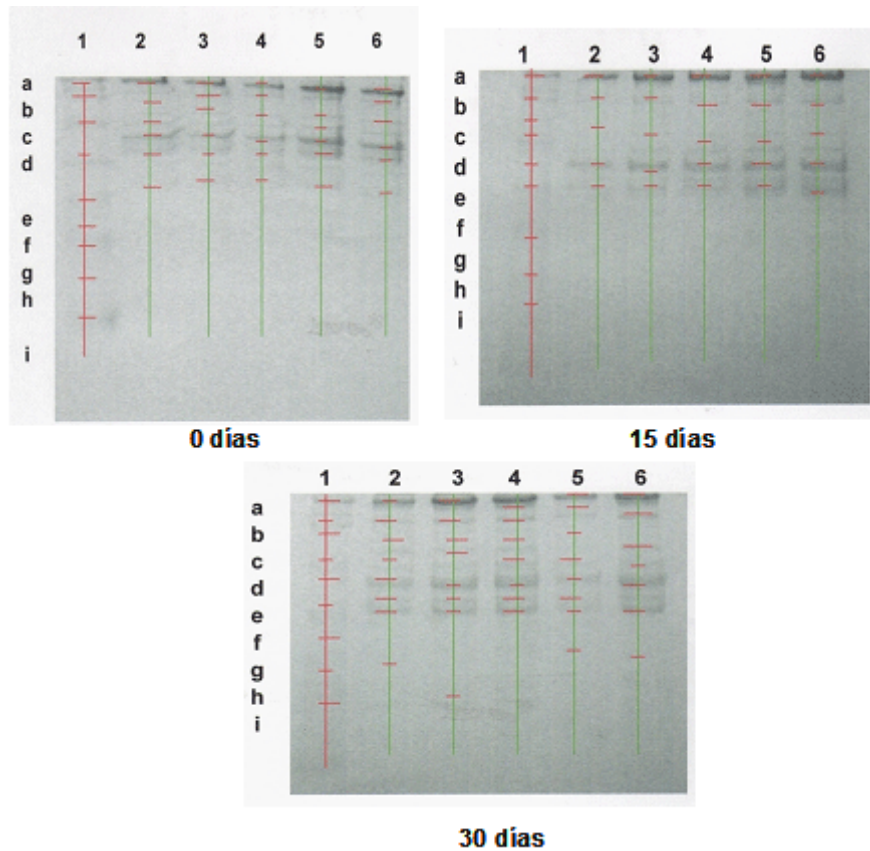
En los resultados del patrón electroforético a los 0 y 15 días de almacenamiento, con diferentes empaques (control, carragenina 0,15 %, carragenina 0,05%, gelatina 1% y gelatina 0,50%), se identificaron bandas de proteínas con altos pesos moleculares del tipo Miosina 200KDa; β -galactosidasa 116,25; Fosforilasa b 97,4 KDa; Albumina 66,2 KDa; Ovoalbúmina 45 KDa; Anhidrasa carbónica 31 KDa. con ausencia de bandas relativas a Inhibidor de tripsina 21,5 KDa; Lisosyma 14,4 KDa; Aprotinin KDa 6,5 lo cual indica que a los 0 y 15 días de almacenamiento existe una poca o no degradación de las proteínas del musculo de atún glaseado con hidrocoloides. A los 30 días se identificaron bandas de proteínas con altos pesos moleculares del tipo Miosina 200KDa; β -galactosidasa 116,25; Fosforilasa b 97,4 KDa; Albumina 66,2 KDa; Ovoalbúmina 45 KDa; Anhidrasa carbónica 31 KDa en todos los tratamientos y se encontraron bandas relativas al tipo Inhibidor de tripsina 21,5 KDa; Lisosyma 14,4 KDa; Aprotinin KDa 6,5 en los tratamientos control, carragenina 0,15% y gelatina 1%.

TABLA 1
 Parámetros de Color (L, a y b ± DE) en los lomos de atún (*Thunnus thynnus*) glaseados incorporando hidrocoloides y almacenados durante 30 días a -10°C

Tratamiento (%)	0 días			15 días			30 días		
	L	a	b	L	a	b	L	a	b
Gelatina									
0,50	24,93±4,48aa	8,83±2,20aa	7,75±2,31aa	26,24±3,86cb	6,45±1,2bb	6,74±1,09bb	22,10±2,31ab	5,83±0,92bc	6,37±0,92ab
1,00	24,93±4,48aa	8,83±2,20aa	7,75±2,31aa	24,85±3,21ba	6,18±1,57ab	6,48±0,87ab	22,66±5,68ab	3,18±0,71ac	6,08±1,32bb
Carragenina									
0,05	24,93±4,48aa	8,83±2,20aa	7,75±2,31aa	23,34±3,91ab	7,17±1,33bb	6,48±1,18bb	24,58±1,88ba	3,96±1,54ac	5,41±0,79cc
0,15	24,93±4,48aa	8,83±2,20aa	7,75±2,31aa	25,78±4,59ab	5,66±1,14ac	6,40±1,54cb	21,40±3,75cb	7,07±1,06bb	6,12±1,12bb
Control	24,93±4,48aa	8,83±2,20aa	7,75±2,31aa	28,40±3,75cb	5,61 ± 0,61ab	7,81± 1,15ca	25,33±4,78ba	5,81±1,10bb	7,74 ± 1,27ab

Media ± DS n=3. Letras iguales en una misma fila indican que no existe diferencia significativa, primera letra indica diferencias significativas entre tratamientos, la segunda letra indica diferencias significativas en el tiempo (P<0.05).

FIGURA 4



Electroforesis SDS-PAGE de músculo de atún (*Thunnus thynnus*). Glaseado con hidrocoloides y almacenado a -10°C. Líneas verticales indican el tipo de tratamiento. Estándar (1); control (2); carragenina 0,15 % (3); carragenina 0,05% (4); gelatina 1% (5) y gelatina 0,50% (6). Líneas horizontales indican las bandas de proteínas del estándar: Miosina 200KDa(a); β-galactosidasa 116,25(b); Fosforilasa b 97,4 KDa(c); Albumina 66,2 KDa (d); Ovoalbúmina 45 Da (e); Anhidrasa carbónica 31 KDa (f); Inhibidor de tripsina 21,5 KDa (g); Lisosyma 14,4(h) KDa; Aprotinin KDa 6,5 (i).

DISCUSION

El glaseado es importante en la conservación de los alimentos ya que actúa como barrera protectora que mantiene estable la humedad, disminuye los cambios deteriorativos a los cuales puede estar sometido el alimento durante su comercialización y almacenamiento (16). Al observar los valores de desviación estándar, (Figura 1), se puede inferir que la humedad se mantiene dentro del margen de error a los 15 y 30 días en las muestras glaseadas con hidrocoloides, a pesar de obtenerse diferencias significativas entre algunos tratamientos y el control, lo que indica el papel de la carragenina y la gelatina como películas protectoras, evitando la pérdida de humedad hacia el ambiente. La pérdida de humedad en los alimentos se ve reflejada en cambios en la textura, ya que al haber pérdida de las moléculas de vapor de agua, hay disminución de la calidad del pescado, tornándose seco y dura (11). El glaseado con hidrocoloides incrementa el efecto de barrera evitando que exista una pérdida de humedad en el músculo del atún al ambiente. Durante la congelación del músculo, las moléculas de agua localizadas en las zonas más frías comienzan a cristalizar. El agua contenida en el sistema muscular migra hacia la superficie de los cristales de hielo aumentando su tamaño. Se considera que este fenómeno induce la pérdida de agua hacia el ambiente, produciéndose pérdida de humedad, por exudación y en algunos casos por deshidratación o pérdida de agua por evaporación, o por la ausencia de una película protectora o empaque adecuado (2,14). El corte del músculo de pescado acelera el proceso desnaturalización de las proteínas, disminuyendo la solubilidad de las mismas en solución salina (25).

Las moléculas de carragenina poseen una estructura conformacional de doble hélice, con grupos sulfatos, que al ser disuelta en agua forma una estructura lineal, de naturaleza hidrofílica produciendo una inmovilización de las moléculas de agua que se encuentran a su alrededor e induciendo la formación de geles altamente estables formando una red o malla (11,26). Altas concentraciones de carragenina, al entrar en contacto con moléculas de proteínas, pueden ocasionar una reacción de precipitación de los grupos sulfatos con moléculas de proteínas (11). Es por esto que las concentraciones de carragenina utilizadas para el glaseado en esta investigación son tan bajas, de no ser así se formaría un precipitado proteína sulfato el cual afectaría la estabilidad del glaseado, disminuyéndose el porcentaje de humedad y la calidad del producto.

Cuando el pescado es almacenado en congelación, hay una disminución de la cantidad de proteína extraíble en soluciones salinas y, por ello, se deduce la existencia de una asociación entre la desnaturalización proteica y el endurecimiento del músculo de pescado durante el almacenamiento en congelación (27). La desnaturalización de las proteínas ha sido definida

como un cambio en su estructura que conlleva a la pérdida de sus propiedades funcionales, entre ellas la solubilidad. Se ha señalado que durante las etapas iniciales de la congelación, la actina y la miosina, aparentemente, forman una fracción insoluble que disminuye la solubilización de las proteínas (15). En general se observó que a las muestras que se le incorporó hidrocoloides, la pérdida de proteína soluble fue menor, lo cual indica la capacidad de las soluciones de carragenina y la gelatina de actuar como película protectora influyendo sobre el mantenimiento de la calidad del lomo de atún en el tiempo. La disminución de la degradación de las proteínas puede ser debido a que las soluciones de carragenina y gelatina son muy estables en cuanto a su estructura, lo cual impide el paso de oxígeno, la pérdida de humedad y con ello la degradación de las proteínas. En especies como la tilapia, el carite y el pargo sin empacar se reportan valores donde la disminución de las proteínas solubles en 60 días alcanzaron 36%, 29 % y 40% (28-30). El tiempo de almacenamiento afecta significativamente la solubilidad de las proteínas; A medida que se incrementa el tiempo de almacenamiento, disminuye la solubilidad de las proteínas. En filetes de bagre almacenado a -20°C durante 3 meses Suvanich y col. (30) observaron una disminución de las proteínas solubles en solución salina en un 37%. López (25) almacenó, durante 6 meses a -12 y -25°C, porciones de pescado empacadas con polietileno y glaseado, realizando una comparación entre los dos tipos de empaques y observó una disminución progresiva de la solubilidad en las proteínas solubles en solución salina, obteniendo, una mayor solubilización en el empaque de polietileno, con respecto al glaseado. Estos resultados coinciden con los encontrados en la presente investigación en la cual se observó una disminución progresiva de la solubilidad en las proteínas solubles en solución salina, obteniéndose una mayor solubilización en las muestras glaseadas con hidrocoloides, con respecto al control.

Al estudiarse los cambios que se suceden cuando la miosina obtenida de *Tilapia nilotica* fue solubilizada (solución salina de alta fuerza iónica) o suspendida (solución salina de baja fuerza iónica) antes de congelar, Ramírez y col. (31) y González (32), señalaron que la congelación provoca agregación de la miosina dependiendo de su estado fisicoquímico inicial. Cuando ésta se encuentra en un medio de alta fuerza iónica observaron la agregación proteica con participación de enlaces disulfuro y una mayor desnaturalización de la proteína, por el contrario, en un medio de baja fuerza iónica, observaron una menor interacción de grupos sulfhidrilo, y por consiguiente una menor desnaturalización, lo cual les permitió concluir que una de las causas de la desnaturalización de proteínas está relacionada con la interacción de grupos sulfhidrilo de las proteínas. Durante el almacenamiento congelado durante periodos de tiempo prolongados, existe una disminución en la

extractabilidad de las proteínas (32) al estudiar los cambios en proteínas en filetes de bagre *Tachysurus dussumieri*) durante 300 días de almacenamiento a -20°C . Por otra parte, Suvanich y col. (30) encontraron una disminución de las proteínas solubles en solución salina en pulpa de bagre sometida al proceso de lavado y sin lavar almacenada a -20°C durante 3 meses.

Los cambios en los lípidos del pescado son un parámetro muy importante a estudiar, pues sus ácidos grasos son altamente insaturados, haciéndose susceptibles al ataque por el oxígeno, produciendo rancidez y reduciendo el período de almacenamiento y aceptabilidad en los productos pesqueros. En la pulpa de pescado, estos cambios se hacen más significativos debido a la mayor exposición del oxígeno (33,34).

La oxidación de lípidos es un factor limitante en el almacenamiento en congelación, particularmente en los pescados grasos como es el caso del atún ya que causa cambios en el olor, sabor y otros atributos de calidad. Varios métodos son utilizados para retardar o prevenir la oxidación o el nivel de rancidez oxidativa en la carne de pescado incluyendo almacenamiento a bajas concentraciones, empacamiento apropiado, glaseado con otros químicos y la incorporación de antioxidantes (33). En general, la oxidación de lípidos de los lomos de atún con los tratamientos de carragenina son menores al compararse con los tratamientos de gelatina y el control, se asume que la entrada de oxígeno al lomo de atún fue limitada debido a que la mezcla de agua con la carragenina fue lo suficientemente estable debido a la estructura tridimensional que se produce en estas soluciones proporcionando estabilidad a la solución mejorando la impermeabilidad en el lomo de atún, evitando la migración de las moléculas de vapor de agua y la entrada de las moléculas de oxígeno. Respecto al control si se compara con los distintos tratamientos realizados se observa que la rancidez oxidativa aumenta significativamente ($p < 0,05$) a los 15 días, y 30 días. Una vez más se puede inferir que los hidrocoloides contribuyen a la estabilidad de los lípidos en el atún glaseado con hidrocoloides.

El color es la característica más importante que afecte la decisión del consumidor en el momento de aceptar la carne o los productos cárnicos. Rojas y cols. (3), reportaron que el 74% de los consumidores indicaron que el color era importante al momento de decidir la compra de los productos, ya que los consumidores asocian el color rojo brillante con la frescura de las carnes rojas. El color se puede determinar sensorialmente o por métodos instrumentales en términos de luminosidad y combinaciones de los colores verde, rojo, amarillo y azul. El método instrumental es el método más simple y se ha determinado su aplicabilidad para el control de calidad en productos alimenticios.

La oxidación de la deoximioglobina y oximioglobina a metmioglobina resultan en un cambio evidente de color en

las carnes. Massa (9) reportó un incremento lineal en el rechazo de los consumidores en la carne descolorada, cuando la metmioglobina aumenta en la carne fresca. Los consumidores discriminan la carne cuando ya la metmioglobina a aumentado a un 20%. En el pescado fresco, la cantidad total de metmioglobina es afectada principalmente por el oxígeno y la temperatura (31). Sin embargo en este estudio los cambios de color durante 30 días estuvieron por debajo del 20%.

Diversos autores señalan la utilización del método de electroforesis SDS-PAGE, como una técnica que permite detectar cambios moleculares en el tejido muscular del pescado durante el almacenamiento congelado como un índice del grado de desnaturalización (35-37). La aparición de bandas de proteínas de bajo peso molecular pudo deberse a la desnaturalización de las proteínas durante el tiempo de almacenamiento congelado. A los 30 con los tratamientos de carragenina 0,05% y con gelatina 0,50% no se observaron bandas de bajo peso molecular lo cual podría indicar que el glaseado incorporando estos hidrocoloides evita la desnaturalización de las proteínas del musculo de atún almacenado durante este tiempo. A medida que transcurre el tiempo de almacenamiento se observa como algunas bandas, correspondientes a masas moleculares entre 31-6,5 KDa o zona de bajo peso molecular aparecen o aumentan de intensidad y altura. Este cambio, puede deberse al deterioro y agregación de las proteínas miofibrilares las cuales cambian su conformación y se desnaturalizan, influenciadas por la temperatura, la velocidad de congelación y el tiempo de almacenamiento.

Rodríguez, (38) observó el incremento de las bandas electroforéticas de bajo peso molecular a medida que transcurrió el tiempo de almacenamiento lo cual es atribuido a la desnaturalización de las proteínas, en concordancia con los resultados obtenidos para esta investigación. Careche y col. (39) concluyeron que en muestras de pescado se pueden encontrar agregados formados durante el almacenamiento congelado que están compuestos principalmente de miosina y actina unidas por interacciones secundarias y puentes disulfuros los cuales están influenciados por la temperatura de almacenamiento. Estos agregados, tienden a crecer en número y tamaño a medida que progresa el almacenamiento, llegando a ser insolubles en solución salina, pero extraíbles con SDS o SDS-Mercaptoetanol (ME). Similar a lo obtenido en esta investigación, se observó la disminución de la solubilidad de la proteína producto, probablemente, de la presencia de agregados de miosina que a medida que transcurrió el tiempo de almacenamiento, se mantuvieron en número y tamaño en el gel de electroforesis.

La estabilidad de las proteínas durante el almacenamiento en congelación ha sido estudiada en diferentes especies de pescado y se ha reconocido que varía con la especie y con las

condiciones de almacenamiento (34). En filetes de locha roja (*Urophycis chuss*) almacenados a -7 y -80°C , se reportó una disminución en la solubilidad de proteínas solubles en agua y proteínas solubles en solución salina, señalando que esta desnaturalización fue mayor en proteínas miofibrilares del tipo; miosina de cadena pesada, M-proteínas y C-proteínas, siendo esta disminución más acentuada a -7°C .

Del Mazo y col. (40), aplicando las técnicas electroforéticas evaluaron el efecto de dos temperaturas (-20 y -30°C) de almacenamiento congelado en la extractabilidad de la actomiosina natural (NAM) en $0,6$ NaCl mol/L durante el almacenamiento de filetes de merluza, y las modificaciones que ocurren en las características funcionales y estructurales de esta fracción. La proporción de miosina y actina con el tiempo de almacenamiento disminuyó en la pulpa de merluza almacenada a -20°C , sin embargo, la cantidad total de actina y miosina extraída en solución salina disminuyó en ambas temperaturas con el tiempo de almacenamiento. Además encontraron que a medida que progresaba el almacenamiento, se formaron agregados de masas moleculares altas en los cuales las proteínas estaban unidas, en parte, por enlaces covalentes no disulfuro.

Ramírez y col. (31) concluyeron que en pescado congelado que ha experimentado deterioro durante el almacenamiento aparecen agregados de proteínas de alta masa molecular estabilizados por interacciones hidrofóbicas además de por enlaces disulfuro y otros enlaces no covalentes. Se demostró que la miosina empieza a agregarse desde las etapas iniciales de la congelación y el grado de agregación, se incrementa con el tiempo de almacenamiento, esta estabilidad, así como el tipo de enlace va depender de la especie.

CONCLUSIONES

La técnica del glaseado adicionando hidrocoloides como alternativa de empaque protege al lomo de atún ante la pérdida de humedad y retrasa la degradación de las proteínas. Durante los 15 y 30 días de almacenamiento a -10°C se observó una disminución progresiva de las proteínas solubles totales siendo este efecto más pronunciado en las muestras control y menos pronunciado en las muestras glaseadas con soluciones de hidrocoloides especialmente carragenina. A medida que transcurre el tiempo de almacenamiento se observó la aparición de un gran número de bandas de proteínas de baja masa molecular, producto de la degradación de las mismas, siendo menos pronunciado ésta aparición en las muestras glaseadas con hidrocoloides.

REFERENCIAS

- Fennema O. Química de los Alimentos. 2ª Edición. Ed. Acribia. Zaragoza, España. 2000; 221-227, 228-229, 241-245, 253-256.
- Pagela. Characterization of Starch based Edible Coatings. Trans ICEM. 80, Part C. 2002;10-12.
- Rojas Grau MA, Tapia MS, Rodríguez FJ, Carmona AJ, Martín O. Alginate and gellan-Based edible coating as carriers of antibrowning agent's applied on fresh-cut Fuji apples. Fd Hydrocolloids. 2006;21:118-127.
- Anónimo. A focus on Gums. Special Report". Fd Tech. 1991; 1-4.
- Na Kao X. Effects of varios pasticizers on mechanical and water vapor barrier properties of gelatin films. Fd. Hydrocolloids 2008; 23:729-735.
- Marcano J, Lárez A, Gutiérrez X, Salazar H. Pesquería de túnidos por pequeños palangreros en el Mar Caribe y el Océano Atlántico Durante el periodo 1986-2000. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA), Cumaná, Venezuela 2000; 1-10.
- Cartacci C. El mercado mundial del atún. INFOPESCA; 2003; 15:1-9.
- Kunjachan T. Comparando tecnologías de congelación. Infopesca Internacional. Enero-Marzo.2005:21.
- Massa E. Cambios bioquímicas *post mortem* en músculos de diferentes especies pesqueras. Determinación de la vida útil de las mismas en frío. Trabajo de Doctorado. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad Nacional de Mar de Plata. Argentina; 2006;2-6.
- Márquez Y, Cabello A. Cambios físicos-químicos y microbiológicos observados durante el proceso tecnológico de la conserva de atún. Zootecnia Tropical 17-29.
- Badui S. Química de los alimentos. Cuarta edición. Editorial Pearson. Ciudad de México, México; 2006; 81-88,103-105, 161-169.
- Avdalov N. Manual para trabajadores de la industria pesquera INFOPESCA. Venezuela. 2003;4 -12.
- Suárez MA, De Francisco A, Beirão HL, Pardo CS y Cortés RM. Pérdida de textura post mortem de la carne de pescado durante el almacenamiento en frío. Acta Biológica Colombiana. 2007;12(1):3-18.
- Howell N y Sarkardei S. The effects of freeze-drying and storage on the FT-Raman spectra of Atlantic mackerel (*Scomber scombrus*) and horse mackerel (*Trachurus*) Fd Chem. 2007;103: 62-70.
- Howell N, Badii F. Changes in the texture and structure of cod and haddock fillet during frozen storage. Fd Hydrocolloids 2001;16: 313-319.
- Codex Alimentarius Commission. 2002. <http://www.fao.org>. (Consulta: 2009 Abril, 25).
- Rivas N, Canadían. Food Inspection Agency, en <http://www.inspection.gc.ca>. 2006
- Rungsinee S, Natcharee P. Oxigen permeability and mechanical properties of banana films. Department of food Engineering, Fd Res Int. 2007; 40:365-370.
- AOAC. Official Methods of Analysis of Official Analytical Chemist. XVI ED. Mowist, Washington D.C. 1990; 69 -74.
- Barrero M, Castillo y Kodaira M. Influence of washing and frozen storage on the myofibrillar protein fraction in sardine mince flesh. Rev Científica Facultad de Cienc 405- 411.
- Montecchia C, Roura S, Roldan H, Perez-Borla O, Crupkin M. Biochemical and Physicochemical Properties of Actomyo-

- sin from Frozen Pre-and Post- spawned Hake. J. Fd Sci. 1997; 191-195.
22. Hashimoto K, Watanabe S, Kono M, Shiro K. Muscle protein composition of sardine and mackerel. Bull of the J. Soc. of Sci. Fish. 1979; 45, 11:1435-1441.
 23. Ashie I, Simpsom B, Romaswamy H. Changes in texture and microstructure of pressure-treated fish muscle tissue during chilled storage. J Muscle Fd. 1997; 8:13-32.
 24. Tarladgis B., Watts, B., Younatha, M. A distillation method for the quantitative determination of malonaldehyde in rancid food" J Am Oil Chem Soc. 1960; 37(1):44-48.
 25. López M. Estudio de la estabilidad en porciones de bagre yaqué (*letarius mamoratus*) durante el almacenamiento congelado utilizando tres tipos de empaque. [Tesis de Maestría]. Facultad de Ciencias. Universidad Central de Venezuela; 2006.
 26. Requena L. Extracción y caracterización de la carragenina obtenida a partir de la especie de alga marina roja *kappaphycus alvarezii* (Doty) proveniente de arribazones de la isla de Margarita Edo Nueva Esparta, Venezuela. Tesis de Pregrado. Escuela de Biología. Universidad Central de Venezuela. 2007.
 27. Tejada M, Careche M, Torrejón P, Del Mazo M, Solas M, García M y Barba C. Protein extracts and aggregates forming in minced cod (*Gadus morhua*) during frozen storage. J Agric Food Chem. 1996;44:3308-3314
 28. Arvelaiz P. Evaluación de la estabilidad lipídica y proteica de tilapia rosada híbrido (*Oreochromis sp*) durante su almacenamiento congelado. [Tesis de Maestría]. Facultad de Ciencias. Universidad Central de Venezuela; 1996.
 29. Alexander R. Hidrocolloid Gums- Part I: natural products. Cereal Fds. World. 1999; 44. (9): 684-686.
 30. Suvanich V, Jahncke M y Marshall. Changes in selected chemical quality characteristics of channel catfish frame mince during chill and frozen storage. Fd Chem Toxicol. 2000; 65:24-29.
 31. Ramirez J, Martin M y Bandman E. Fish myosin aggregation as affected by freezing and initial physical state. Fd. Chem. Toxic. 2000; 65: 556-560.
 32. González D. Evaluación física, química y organoléptica de la sardina (*Sardinella aurita*) tipo round durante su almacenamiento congelado. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias. Universidad Central de Venezuela. 2001
 33. Nakamura Y, Nando M, Seok M, Kawasaki K, Itsukamasa Y. Changes of proximate and fatty acid compositions of the dorsal and ventral ordinary muscle of the full-cycle cultured pacific bluefin tuna *Thunnus orientalis* with the growth. Fd Chem 2006; 103: 234-241.
 34. Barrero M y Bello R. Cambios en la composición de los ácidos grasos de la pulpa de sardina (*Sardinella aurita*) lavada con una solución de bicarbonato de sodio al 0,5%. Rev. Científica Facultad de Ciencias Veterinarias División de Investigación. Universidad del Zulia. Venezuela. 2000;136-143
 35. García H. Electroforesis en geles de poli(acrilamida): fundamentos actualidad e importancia. Laboratorios Betera. Cuba. 2001; 1 (2),4- 31.
 36. Castillo Y. Evaluación del efecto de lavado con una solución de NaHCO₃ al 0,5% sobre proteínas de la pulpa de sardina (*sardinella aurita*) congelada a -40°C. [Tesis de Pregrado]. Escuela de Biología. Universidad Central de Venezuela; 2001.
 37. Arvelaiz P y Bello R. Cambios en las propiedades químicas y bioquímicas del músculo de coporo (*Prochilodus mariae*) asociados al ciclo reproductivo. Rev. Científica, FCV- LUZ. 2005; 15:368-376.
 38. Rodríguez N. Estudio de la estabilidad durante el almacenamiento congelado de porciones de pescado incorporando proteína de soya. [Tesis de Maestría]. Facultad de Ciencias. Universidad Central de Venezuela; 2006.
 39. Careche M, Del Mazo M, Torrejón P, Tejada M. Important of frozen storage temperature in the type of aggregation of myofibrillar protein in cod (*Gadus morhua*) fillets. J Agric Food Chem. 1999;46:1539-1546.
 40. Del Mazo M, Torrejón P, Careche M, Tejada M. Characteristics of the salt-soluble fraction of hack (*Merluccius merluccius*) fillets stored at -20 y -30°C. J Agric Food Chem. 1999; 47:1372-1377.

Recibido: 23-03-2010

Aceptado:16-09-2010

Effect of processing and storage time on the vitamin C and lycopene contents of nectar of pink guava (*Psidium guajava* L.)

Luis E. Ordóñez-Santos and Andrea Vázquez-Riascos

Departamento de Ingeniería, Facultad de Ingeniería y Administración, Universidad Nacional de Colombia,
Palmira, Valle del Cauca, Colombia

SUMMARY. In this study, the effect of processing and storage time on the vitamin C and lycopene contents was evaluated. Guavas were washed, cut in quarters, blanched, pulped and the pulp pasteurized. The pulp was used for the production of nectar: guava pulp, sugar and water were mixed in 5:3:12 proportions, and the mixture was pasteurized, poured while hot into 125 mL glass jars, and cooled rapidly to 25°C. The production of nectar from fresh guava reduced vitamin C, lycopene and titratable acidity, by contrast soluble solid and pH increased significant. Vitamin C content from 168.9 to 62.3 mg/(100 g fresh weight), and lycopene content from 3.55 to 1.35 mg/(100 g fresh weight) ($p < 0.001$ in both cases). After 240 days at 10.0±2°C, no further statistically significant change in lycopene and soluble solid content was observed ($p > 0.05$). Storage time did affect vitamin C, pH, and titratable acidity content, vitamin C content fell by 89.3% to 6.67 mg/(100 g fresh weight) ($p < 0.001$). Based on this study, guava nectar storage at 10 ° C retained 46% of the content of vitamin C for 120 days.

Key words: pH, titratable acidity, soluble solids, tropical fruit.

RESUMEN. Efecto del procesamiento y tiempo de almacenamiento en el contenido de vitamina C y licopeno en néctar de guayaba rosada (*Psidium guajava* L.). En este estudio, el efecto del procesamiento y el tiempo de almacenamiento en el contenido de vitamina C y licopeno fueron evaluados. Las guayabas fueron lavadas, cortadas en cuartos, escaldadas, despulpadas y la pulpa pasteurizada. La pulpa se utilizó en la producción del néctar: pulpa de guayaba, azúcar y agua se mezclaron en la proporción de 5:3:12, y la mezcla se pasteurizó, vertido en caliente en frascos de vidrio 125 ml, y se enfrió rápidamente a 25°C. La producción de néctar de guayaba fresca reduce la vitamina C, licopeno y la acidez titulable, en contraste los sólidos solubles y el pH se incrementan significativamente. El contenido de vitamina C de 168,9 a 62,3 mg/100 g de peso fresco, y el contenido de licopeno de 3,55 a 1,35 mg/100 de peso fresco ($p < 0,001$ en ambos casos). Después de 240 días a 10,0±2°C no se observó cambios estadísticamente significativos en el contenido del licopeno ($p > 0,05$). El tiempo de almacenamiento afectó el contenido de vitamina C, el pH y acidez titulable, el contenido de vitamina C se redujo en un 89,3% a 6,67 mg/100 g de peso fresco ($p < 0,001$). En base a este estudio, el almacenamiento de néctar de guayaba a 10°C, conserva el 46% del contenido de vitamina C durante 120 días

Palabras clave: pH, acidez titulable, sólidos solubles, fruta tropical.

INTRODUCTION

Guava (*Psidium guajava* L.) is an important fruit crop of subtropical and tropical regions (1). It is nutritionally important due to its high levels of vitamin C and pro-vitamin A (2); its vitamin C content is three to six times higher than that of orange, and its lycopene content twice that of tomato (3,4). There is evidence that increased intake of vitamin C and lycopene is associated with a reduced risk of chronic diseases such as cancer, cardiovascular disease and cataracts, probably through antioxidant mechanisms (5, 6).

Several guava products have been studied with regard to the influence of processing and storage time on their lycopene and vitamin C contents. Padula and Rodríguez-Amaya (7) reported lycopene losses of 17.6% and observed a 36% reduction in the vitamin C content of guava juice stored for 210 days at 4°C. Jawaheer *et al.* (8) reported a reduction of 70% in guava jam stored for 90 days at 25°C. Brunini *et al.*

(9) reported vitamin C losses of 92% guava pulp stored for 154 days at -20°C. Other products have been evaluated: guava purée (10,11), sliced guava in syrup (10), and guava that had been dried by various methods (3,12,13). However, there has been no comprehensive investigation of the stability of these micronutrients in guava nectar during processing and storage. The findings reported here fill this gap in our knowledge.

MATERIALS AND METHODS

Preparation and storage of guava nectar

A 24 kg sample of guava (*Psidium guajava* L. 'Pera') was purchased in Palmira (Colombia), and divided into six lots, which were processed in Laboratory Technology of Fruit and Vegetables of the National University of Colombia in accordance with standard industry practices. The guavas were washed with tapwater, and a portion of each lot was homogenized and analysed as described in Physicochemical

analyses. The remaining fruits of each lot were disinfected by 5 minutes' immersion in a 50 ppm solution of sodium hypochlorite, cut in quarters, blanched for 6 minutes in saturated steam at 97°C, and pulped mechanically on a 2 mm mesh sieve. Part of the pulp of each lot was pasteurized by a 30-minute treatment at 90°C and atmospheric pressure in a jacketed vessel, after which it was allowed to cool, packed in bags made of high density polyethylene 2 mm thick, and stored at 20°C pending analysis on the following day. The rest of the pulp was used for the production of nectar in compliance with Colombian regulation NTC 5468 (14): guava pulp, sugar and water were mixed in 5:3:12 proportions, and the mixture was pasteurized as above, poured while hot into 125 mL glass jars (leaving a 0.5 cm headspace), and cooled rapidly to 25°C by water jets. The jars of pasteurized nectar were stored 10.0±2 °C for up to 240 days. On days 0, 60, 120, 180 and 240, six jars were randomly selected (one from each lot) and were removed for analysis.

Physicochemical analyses

Titrateable acidity (TA), pH and total soluble solids content (SS) were determined by official Colombian methods (15, 16 and 17, respectively); TA was expressed as (g citric acid)/(100 g fresh weight (fw)), and SS as °Brix. Lycopene was extracted as per Ordóñez-Santos et al. (18). Briefly, 2 g of the sample was weighed in a 250 mL Erlenmeyer flask, and 50 mL of 2:1:1 hexane/acetone/ethanol. The flask was covered with aluminium foil, and the flask was then placed in crushed ice and shaken for 10 min, after which 10 mL of distilled water was added and shaking was continued for a further 5 min. A 4 mL sample of the organic (hexane) phase was then taken with a Pasteur pipette and was quantified as mg/(100 g fw) as per Fish et al. (19), by measurement of the absorbance of the extract at 503 nm against hexane in a Genesys 10 UV-Vis spectrophotometer (Thermo Electron Scientific Instruments

LLC, Madison, WI, USA).

Vitamin C was determined as per Oboh (20). Briefly, 5 g of the sample was extracted by 100 ml H₂O and 10 ml of the extract was mixed with 25 ml of 20% glacial acetic acid and titrated against standardized 2,6-dichloroindophenol (0.05 g/100 ml) solution. Ascorbic acid was used as standard, and the result was expressed as mg/(100 g fw). All analyses were performed in triplicate.

Statistical analyses

Results are expressed as means± standard deviations. The experimental data conform to one-factor complete randomized blocks designs with six replicates, and were analysed by one-way ANOVAs using fixed effects models and *post hoc* Tukey tests. All analyses were performed using SPSS for Windows v.17.

RESULTS

The effect of processing

Table 1 lists the lycopene and vitamin C contents, and SS, pH and TA values, of homogenized whole guava, pulp and nectar on day 0. The SS, pH and TA of guava pulp did not differ significantly from those of the whole fruit, by contrast, pulping significantly increased lycopene content by 77.5% and Vitamin C content was significantly reduced by 28.3%. The transformation of pulp into nectar naturally increased SS (because of the added sugar), and consequently reduced TA and increased pH. Also, lycopene content was reduced to 38% of that of the whole fruit, and vitamin C content was further reduced to 37% of that of the whole fruit. The reduction of these two antioxidant effect is mainly due to the dilution and the nectar is only 25% of guava pulp.

TABLE 1

Physico-chemical properties of fresh whole guava, guava pulp and nectar of guava (means± standard deviations of six replicate lots, within a column, values with the same associated letter are not significantly different (Tukey, P < 0.05)

Product	Soluble solids (°Brix)	pH	Titrateable acidity (g citric acid/ 100 g fresh mass)	Lycopene (mg/ 100 g fresh mass)	Vitamina C (mg/ 100 g fresh mass)
Whole fruit	8.23±0.73 ^b	3.61±0.09 ^b	0.53±0.12 ^a	3.55±1.38 ^b	168.91±36.88 ^a
Pulp	8.84±0.64 ^b	3.72±0.03 ^{ab}	0.62±0.03 ^a	6.30±0.20 ^a	121.15±33.15 ^b
Nectar	23.43±2.10 ^a	3.81±0.13 ^a	0.25±0.05 ^b	1.35±0.20 ^c	62.32±9.70 ^c

P value p < 0.001 p < 0.05 p < 0.001 p < 0.001 p < 0.001

The influence of storage

Storage for 240 days at 10.0 ± 2 °C had no significant effect on either SS or lycopene content (Table 2). Storage time did affect pH, TA and vitamin C content. The pH was significantly lower on day 240 than at earlier times (3.70 as against 3.78-3.81). Compared with day 0, TA was significantly lower on

days 60, 120 and 240 (in spite of the fall in pH), but not on day 180. Vitamin C content fell progressively throughout the study, especially between days 0 and 60 and between days 120 and 180; at the end of the study it was only 11% of its initial value.

TABLE 2

Physico-chemical properties of nectar of guava after storage for various times at 10 ± 2 °C (means \pm standard deviations of six replicate lots, within a column, values with the same associated letter are not significantly different (Tukey, $P < 0.05$)

storage time (days)	Soluble solids (°Brix)	pH	Titratable acidity (g citric acid/ 100 g fresh mass)	Lycopene (mg/ 100 g fresh mass)	Vitamina C (mg/ 100 g fresh mass)
0	23.43 \pm 2.10 ^a	3.81 \pm 0.13 ^a	0.25 \pm 0.05 ^a	1.35 \pm 0.20 ^a	62.32 \pm 9.70 ^a
60	24.04 \pm 1.98 ^a	3.79 \pm 0.05 ^a	0.22 \pm 0.01 ^b	1.36 \pm 0.41 ^a	33.67 \pm 3.24 ^b
120	24.27 \pm 1.65 ^a	3.78 \pm 0.03 ^a	0.20 \pm 0.02 ^b	1.22 \pm 0.20 ^a	28.81 \pm 1.46 ^b
180	24.23 \pm 1.33 ^a	3.81 \pm 0.02 ^a	0.25 \pm 0.04 ^a	1.36 \pm 0.30 ^a	10.81 \pm 3.30 ^c
240	24.33 \pm 1.50 ^a	3.70 \pm 0.03 ^b	0.22 \pm 0.03 ^b	1.39 \pm 0.30 ^a	6.67 \pm 2.30 ^c
P value	NS	p < 0.001	p < 0.05	NS	p < 0.001

DISCUSSION

The effect of processing

The whole guavas had SS, pH and TA values similar to those reported by Brunini *et al.* (9) and Dos Reis *et al.* (21), average vitamin C levels almost exactly the same as the 168.5 mg/(100 g fw) observed by Vila *et al.* (22) but higher than the 67.9 mg/(100 g fw) of Brunini *et al.* (9), and lycopene contents lower than the 4.7-5.3 and 5.3-8.3 mg/(100 g fw) reported by Rodríguez-Amaya (23) and Rodríguez-Amaya *et al.* (24), respectively. Hypothesis of possible increase of lycopene during the pulping of the guava fruit, is the increase in free lycopene at the expense of protein-bound lycopene, because it may be partly due to the disruption of cell membranes by homogenization and heat treatment leading to the cleavage of protein-carotenoid complexes and hence to increased extractability of carotenoids (25). However, heat treatment might stimulate the transformation of some carotenoids into lycopene. Phytoene undergoes a series of desaturation reactions, each of which creates a new double bond and extends the chromophore by two conjugated double bonds; the end product is lycopene, produced via the intermediates phytofluene, ζ -carotene and neurosporene (26). The loss of vitamin C in the pulping of the guava fruit is greater than the loss of 11% (7) and 20.4% (8) that have been observed during the production of guava juice. These losses of vitamin C are probably due mainly to oxidation; in particular, the oxidation of vitamin C to dehydroascorbic acid is followed by hydrolysis of the latter to 2,3-diketogulonic acid, which then undergoes polymerization to other nutritionally inactive products (27). In this study, the reduction of lycopene and

vitamin C in guava nectar is attributed mainly to the dilution effect generated by addition of water in the product and that the formulation of the nectar in took a 60% water.

The influence of storage

The erratic changes of pH and acidity in this work may have been due to the combined effects of leaching and oxidation of organic acids in the biological matrix. Erratic changes of pH and acidity were reported by Brunini *et al.* (9) in guava pulp stored for 154 days at -20°C, and Freitas *et al.* (28) in acerola juice stored for 350 days at 28°C and. The stability of the lycopene during storage in this study, contrasts with reported lycopene losses of 17.6% during the storage of guava juice (7). The difference may have been due partly to the use of different pulping mesh sizes (2 mm in this study, 0.8-1.5 mm in the one of other authors (7), which may have led to different total solids contents; and partly to the stability of lycopene in the present study having possibly been favoured both by the thermal inactivation of enzymes that expose it to oxidants by destroying the cell wall (29), and by the presence of other antioxidants, including ascorbic acid, tocopherol, β -carotene, and phenolics (30).

The results of the loss of vitamin C during storage of guava nectar are consistent with other studies, Padula and Rodríguez-Amaya (7) observed a 36% reduction in the vitamin C content of guava juice stored for 210 days at 4°C, Jawaheer *et al.* (8) a reduction of 70% in guava jam stored for 90 days at 25°C, and Silva *et al.* (31) observed a 35% reduction in the vitamin C content of guava juice stored for 250 days at 28°C. The massive reduction observed in nectar of guava in the present study is attributable to the presence of free oxygen in the nectar

jar headspace and to residual oxygen in the nectar, both of which will have contributed to the oxidation processes described by Dewanto *et al.* (27).

CONCLUSION

In conclusion, in this study, guava nectar obtained in accordance with official Colombian procedures has significantly greater pH and soluble solids content, and significantly less titratable acidity, lycopene and vitamin C, than the freshly homogenized whole fruit. Storage at 10.0 ± 2 °C for 240 days has no statistically significant effect on soluble solids and lycopene contents, but slightly reduces pH following day 180, reduces vitamin C content to about 11% of its initial value, and causes small erratic changes in titratable acidity.

ACKNOWLEDGEMENT

This work was financially supported by the Research Directorate of the National University of Colombia at Palmira (DIPAL).

REFERENCES

- Sigh SP & Pal RK. Controlled atmosphere storage of guava (*Psidium guajava* L.) fruit. *Postharvest Biol Technol.* 2008;47, 296–306.
- Soares FD, Pereira T, Marques MOM & Monteiro AR. Volatile and non-volatile chemical composition of the white guava fruit (*Psidium guajava*) at different stages of maturity. *Food Chem.* 2007;100,15–21.
- Uddin MS, Hawlader MNA, Ding L & Mujumdar AS. Degradation of ascorbic acid in dried guava during storage. *J Food Eng.* 2002;51, 21-26.
- Sato ACK, Sanjinéz-Argandoña EJ & Cunha RL. The effect of addition of calcium and processing temperature on the quality of guava in syrup. *J Food Sci Technol.* 2006;41, 417–424.
- García-Alonso M, Pascual-Teresa S, Santos-Buelga C & Rivas-Gonzalo JC. Evaluation of the antioxidant properties of fruits. *Food Chem.* 2004;84, 13–18
- Willcox BJ, Curb D & Rodríguez BL. Antioxidants in Cardiovascular Health and Disease: Key Lessons from Epidemiologic Studies. *Am J Cardiol.* 2008;101, 75D-86D.
- Padula M & Rodríguez-Amaya, D.B. Changes in individual carotenoids and vitamin C on processing and storage of guava juice. *Acta Aliment.* 1987;16, 217-223.
- Jawaheer B, Goburdhun D & Rugoo A. Effect of processing and storage of guava into jam and juice on the ascorbic acid content, *Plant Food Hum Nutr.* 2003;58, 1-12.
- Brunini MA, Oliverira AL, & Varanda BD. Quality evaluation of 'Paluma' guava pulp stored at -20°C . *Rev Bras Frutic.* 2003;25, 394-396.
- Wilberg VC & Rodríguez-Amaya DB. HPLC quantitation of major carotenoids of fresh and processed guava, mango and papaya. *Food Sci Technol.* 1995;28, 474-480.
- Yen GC & Lin HT. Comparison of high pressure treatment and thermal pasteurization effects on the quality and shelf life of guava puree. *J Food Sci Technol.* 1996;31, 205-213.
- Ferreira JEM & Rodríguez-Amaya. Degradation of lycopene and β -carotene in model systems and in lyophilized guava during ambient storage: kinetics, structure, and matrix effect. *J Food Sci.* 2008;78, C589-594.
- Queiroz VVA, Berbert PA, Molina MAB, Gravina GA, Queiroz LR & Silva JÁ. Qualidade nutricional de goiabas submetidas aos processos de desidratação por imersão-impregnação e secagem complementar por convecção. *Cienc Tecnol Aliment.* 2008;28, 329-340.
- NTC (5468). Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación. Zumos (jugo), néctares, purés (pulpas) y concentrados de frutas. Bogotá: ICONTEC, 2007. 22 p.
- NTC (4623). Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación. Productos de frutas y verduras: Determinación de la acidez titulable. Bogotá: ICONTEC, 1999. 8 p.
- NTC (4592). Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación. Productos de Frutas y Verduras. Determinación del pH. Bogotá: ICONTEC, 1999.4 p.
- NTC (4624). Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación. Jugos de frutas y hortalizas. Determinación del contenido de sólidos solubles. Método refractométrico. Bogotá: ICONTEC, 1999. 11 p.
- Ordóñez-Santos LE, Vázquez-Odériz L, Arbonez-Macifeira E & Romero-Rodríguez MA. The influence of storage time on micronutrients in bottled tomato pulp. *Food Chem.* 2009;112, 146-149.
- Fish WW, Perkins-Veazie P & Collins JKA. A Quantitative Assay for Lycopene That Utilizes Reduced Volumes of Organic Solvents. *J Food Comp Anal.* 2002;15, 309-317.
- Oboh G. Antioxidant properties of some commonly consumed and underutilized tropical legumes. *Eur Food Res Technol.* 2006;224, 61-65.
- Dos Reis KC, Azevedo LF, Siqueira HH & Ferrua FQ. Avaliação físico-química de goiabas desidratadas osmoticamente em diferentes soluções. *Ciênc Agrotec.* 2007;31(3), 781-785.
- Vila MTR, Lima LCO, Boas VBV, Hojo ETD, Rodrigues LJ & Paula NRF. Chemical and biochemical characterization of guavas stored under refrigeration and modified atmosphere. *Cienc Agrotec, Lavras.* 2007;31(5), 1435-1442.
- Rodríguez-Amaya DB. Latin American food sources of carotenoid. *Archi Latinoamer Nutr.* 1999;49, 74-84
- Rodríguez-Amaya DB, Kimura M, Godoy HT & Amaya-Farfan J. Updated Brazilian database on food carotenoids: Factors affecting carotenoid composition. *J Food Compos Anal.* 2008;21, 445-463.
- Nguyen ML & Schwartz SJ. Lycopene: Chemical and biological properties. *Food Technol.* 1999;53(2), 38–45.
- Odriozola-Serrano I, Soliva-Fortuny R, Hernández-Jover T & Martín-Belloso O. Carotenoid and phenolic profile of tomato juices processed by high intensity pulsed electric fields compared with conventional thermal treatments. *Food Chem.* 2009;112, 258-266.
- Dewanto V, Wu X, Adom KK & Liu RH. Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. *J Agric Food Chem.* 2002;50, 3010–3014.

28. Freitas CAS, Maia GA, Costa JMC & Figueiredo RW. Storage stability of sweetened tropical acerola juice preserved by Hot Fill and aseptic processes. *Cienc Techol Aliment.* 2006;26(3), 544-549.
29. Tamburini R, Sandei L, Aldini A, De F & Leoni C. Effect of storage conditions on lycopene content in tomato purees obtained with different processing techniques. *Industria Conserve.* 1999;74, 341-357.
30. Takeoka GR, Dao L, Flessa S, Gillespie DM, Jewell W, Huebner B, Bertow D & Ebeler SE. Processing effects on lycopene content and antioxidant activity of tomatoes. *J Agricul Food Chem.* 2001;49, 3713-3717.
31. Silva DS, Maia GA, Sousa PHM, Figueiredo RW, Costa JMC & Fonseca AVV. Stability of bioactive compounds of sweetened tropical guava juice obtained by hot fill and aseptic processes. *Cienc Tecnol Aliment.* 2010;30(1): 237-243.

Recibido: 09-07-2010

Aceptado: 26-09-2010

Bebida mista à base de goiaba (*Psidium guajava* L.) e palma forrageira (*Opuntia fícus-indica*): desenvolvimento e aceitabilidade

Rita Débora de Sá Rodrigues Batista, Robson Alves da Silva, Tatiane Menezes Brandão, Teresinha Rodrigues Veloso,
Josyanne Araújo Neves, Débora Nascimento e Santos

Faculdade de Ciências Agrárias de Araripina – FACIAGRA, Departamento de Tecnologia em Alimentos, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí – IFPI. Universidade Federal do Piauí – UFPI. Brasil

RESUMO. Atualmente, na indústria de bebidas, uma alternativa para aumentar o valor nutritivo ou mesmo desenvolver novos sabores tem sido a mistura de produtos na formulação de bebidas mistas. Este trabalho teve como objetivo o desenvolvimento de uma bebida mista de palma forrageira e goiaba. Foram avaliadas quatro formulações com diferentes concentrações de palma e de sólidos solúveis, mantendo-se constante a concentração de goiaba. As formulações foram submetidas à caracterização química (pH, sólidos solúveis, acidez titulável, vitamina C), avaliação sensorial (sabor, cor, corpo e aceitação global) e análises microbiológicas (coliformes totais e termotolerantes, *Salmonella* e *Staphylococcus aureus*). Todas as formulações foram bem aceitas sensorialmente e não apresentaram diferença significativa ($p < 0,5$) entre elas, estando o nível de aceitação entre “gostei ligeiramente” e “gostei moderadamente” para todos os atributos avaliados. A bebida mista formulada apresentou-se dentro dos parâmetros químicos e microbiológicos fixados pela legislação brasileira, exceto para o pH, o qual se apresentou acima do ideal para produtos industrializados. Em relação às análises microbiológicas, nenhuma das formulações apresentou presença de microrganismos. Os resultados mostraram que o produto elaborado encontra-se de acordo com os padrões de identidade e qualidade para bebidas e com uma boa aceitação sensorial, tornando-se um produto com potencial para industrialização.

Palavras chave: Suco, análise química, análise sensorial, fruta.

INTRODUÇÃO

O hábito do consumo de sucos de frutas processadas tem aumentado, motivado pela falta de tempo da população em preparar suco de frutas *in natura*, pela praticidade oferecida pelos produtos, pela substituição do consumo de bebidas carbonatadas, devido ao seu valor nutritivo e à preocupação com o consumo de alimentos mais saudáveis (1).

Os vegetais consistem em fonte nutricional de vitaminas, minerais e carboidratos solúveis, sendo que alguns possuem teor mais elevado de um ou de outro nutriente. Devido à isso, a formulação de bebidas mistas prontas para beber pode ser utilizada com intuito de melhorar as características nutricionais

SUMMARY. Mixed drink consisting of guava (*Psidium guajava* L) and forrageira palm (*Opuntia ficus-indica*): development and acceptability. Nowadays, in the beverage industry, the mixture of products became an alternative to increase the nutritional value or even to develop new flavors in the formulation of mixed drinks. The objective of this work was to develop a mixed drink of forrageira palm with guava. Four formulations with different palm concentrations and soluble solids were evaluated, keeping the concentration of guava stable. The products were submitted to chemical characterization (pH, soluble solids, titratable acidity, vitamin C) sensory evaluation (flavor, color, body and global acceptance) and microbiological analysis (total coliforms and thermotolerants, *Salmonella* and *Staphylococcus aureus*). All the samples were well accepted in the sensory aspect and did not present any significant difference ($p < 0,5$) among them. And the level of acceptance ranged from “I liked it slightly.” to “I liked it moderately.” for all the evaluated features. The formulated mixed drink was according to the chemical and microbiological patterns set by Brazilian laws, except for the pH that was above the ideal level for industrialized products. In respect of the microbiological analysis, none of the formulations presented microorganisms. The results showed that the elaborated product is in accordance with the identity and quality standards established for beverages. It also has a good sensory acceptance, which makes it a product with high potential for industrialization.

Key words: Juice, chemical analysis, sensory analysis, fruit.

de determinados produtos (2), pela complementação de nutrientes fornecidos por vegetais diferentes, como por exemplo, goiaba e palma forrageira. Além disso, a obtenção de novos produtos é uma forma de estimular o desenvolvimento de agroindústrias já existentes, melhorando o aproveitamento da infra-estrutura disponível (3).

A goiaba é um dos frutos tropicais e subtropicais de maior valor nutricional. Possui conteúdos de açúcares, ferro, cálcio, fósforo e vitaminas A, B e C superiores à maioria das frutas (4). Algumas variedades nacionais apresentam em média um teor de ácido ascórbico de 80 miligramas por 100 gramas. A goiaba branca e a amarela são mais ricas em vitamina C que a vermelha (5).

A palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* Mill), uma cactácea cultivada na região semi-árida do Nordeste brasileiro, possui grande quantidade de água e é rica em minerais. As raquetes dessa forrageira apresentam elevado teor de carboidratos solúveis, alto coeficiente de digestibilidade da matéria seca e elevada produtividade (6).

Sua utilização como forragem, como verdura para consumo humano, e como matéria-prima para processamento é diversificada. No mundo, o uso de broto de palma, basicamente, é restrito ao México e outros países com influência mexicana (7), onde existem mais de 200 receitas de comidas à base de palma forrageira. Nos EUA e alguns países europeus e asiáticos, a palma participa de receitas culinárias, consumidas esporadicamente como alimento exótico.

No Brasil, especificamente em alguns municípios do Sertão baiano e da Chapada Diamantina, o broto de palma participa da dieta da população local, e é vendida comercialmente em feiras livres (8).

Resultados experimentais demonstraram que a palma forrageira tem propriedades medicinais e pode ser eficiente em tratamentos contra diabetes, gastrite e obesidade (9). Além disso, Neto et al. (10) demonstrou através do teste de micronúcleos em medula óssea de ratos que a palma não têm efeito mutagênico, inclusive quando ministrada junto com a ciclofosfamida apresentou efeito antimutagênico.

Diante do exposto, os objetivos deste trabalho foram desenvolver uma bebida à base de goiaba e palma forrageira, na forma de “pronto para beber” e estudar suas características químicas, microbiológicas e sensoriais.

MATERIAIS E MÉTODOS

Materiais

Foram utilizadas polpas de goiaba vermelha congelada (Polpa Rio Grande, Teresina-PI), comercializadas nos supermercados de Teresina-PI e a palma *in natura* colhida na cidade de Araripina-PE.

Os outros ingredientes utilizados na formulação da bebida mista foram: água mineral (Manaíra, Dom Expedito Lopes-PI) e açúcar cristal (Caeté, Maceió-AL), ambos adquiridos no comércio varejista da cidade de Teresina-PI.

Formulação da polpa de palma

As raquetes ou brotos da palma foram colhidos pesando entre 80 e 120 gramas e medindo de 15 a 20 cm de comprimento, no período da manhã, acondicionadas em caixas isotérmicas e transportadas para o Laboratório de Tecnologia em Alimentos na cidade de Teresina-PI.

Após a recepção, as raquetes foram lavadas com solução de hipoclorito de sódio a 50 ppm e selecionadas, descartando-se aquelas com injúrias.

Foi realizado descasque manual e superficial da palma, seguido de corte em cubos. Após a desintegração, em liquidificador industrial, a polpa foi refinada em peneira e acondicionada em embalagem plástica de 100 gramas. As embalagens foram seladas, congelada e armazenada a -20°C .

Formulação da bebida

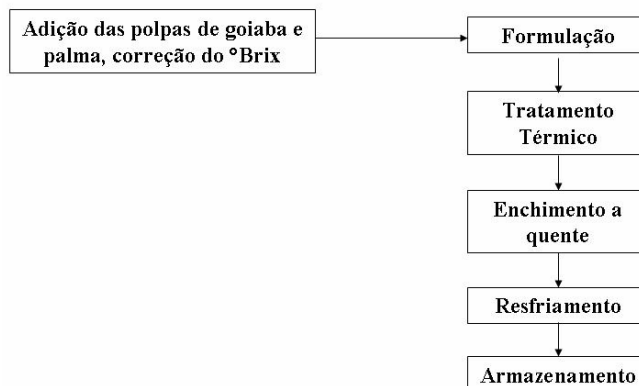
Foram elaboradas quatro formulações fixando a concentração de polpa de goiaba em 30% e variando os percentuais de polpa de palma e sólidos solúveis (Tabela 1), visando à seleção através de testes de aceitação das formulações. As quantidades de polpa e sólidos solúveis foram baseadas na legislação vigente para suco de goiaba (11), respeitando-se os critérios estabelecidos.

TABELA 1
Proporções de polpa de palma (%) e sólidos solúveis ($^{\circ}\text{Brix}$) utilizadas na seleção das formulações do suco misto de goiaba e palma

Formulação	Quantidade de polpa (%)	Sólidos solúveis ($^{\circ}\text{Brix}$)
A	15	11
B	15	12
C	20	11
D	20	12

Cada formulação (A, B, C e D) foi produzida em três lotes, de acordo com o fluxograma de processamento (Figura 1). As formulações foram submetidas ao tratamento térmico de 90°C por 1 minuto em tanque aberto de aço inoxidável e enchimento a quente (*hot fill*), utilizando-se enchedora semi-automática em garrafas de vidro de 250 mL fechadas com tampas plásticas com lacre, sendo posteriormente resfriadas por aspersão de água clorada até temperatura de 35°C .

FIGURA 1
Fluxograma de processamento da bebida mista de goiaba e palma



Após tratamento térmico as amostras foram mantidas à temperatura ambiente ($28\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$) até realização das análises.

Análises químicas

As análises químicas foram realizadas em triplicata em todas as formulações para caracterização de cada amostra.

Foram realizadas as análises de pH, determinado através de leitura direta, em potenciômetro de marca WTW, modelo NT pH2; acidez total titulável com resultados expressos em volume de ácido cítrico por 100 mL da bebida; açúcares redutores, não redutores e totais pelo método de Lane-Eynon; vitamina C, determinada pelo método titulométrico com 2,6-dicloroindofenol (DFI) com resultados expressos em mg/100 mL de ácido ascórbico e sólidos solúveis ($^{\circ}\text{Brix}$) por refratometria em refratômetro ATAGO, todos conforme as normas descritas pelo Instituto Adolfo Lutz (12).

Análises microbiológicas

As análises microbiológicas envolveram a determinação de termotolerantes (coliformes a 35°C e a 45°C), determinação de *Salmonella* sp e *Staphylococcus aureus*. Foram realizadas no Laboratório Central de Saúde Pública (LACEN- PI), conforme a RDC nº12 de 02/01/2001 (13).

Para análise dos microrganismos termotolerantes as amostras foram preparadas transferindo-se 25 mL da bebida para um balão contendo 225mL de água peptonada tamponada 0,1% (APT), sendo esta considerada a diluição 10^{-1} . A partir desta diluição procederam-se as demais diluições seriadas 10^{-2} e 10^{-3} . Inoculou-se as diluições 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} em séries de três tubos com caldo Lauril Sulfato Triptose e incubou-se em estufa bacteriológica a $35\text{-}37^{\circ}\text{C}$ por 24 e 48hs. Logo após este período os tubos positivos foram semeados em Caldo Lactose Bile Verde Brilhante (CLBVB) para análise de Coliformes Totais, sendo mantidos a 35°C por 48hs, onde os tubos positivos foram repicados em tubos com o Caldo EC que foram mantidos a $45,5^{\circ}\text{C}$ em estufa bacteriológica por 48hs.

Para a análise de *Salmonella*, foi realizado o pré-enriquecimento em caldo não seletivo Água Dipeptonada Tamponada (ADPT) a temperatura de 35°C por 12-24 horas a partir de 25 mL de amostra; após esta etapa foi feito um enriquecimento em caldo seletivo (caldo Tetrionato e Rappaport-Vassilians), incubados a 42°C por 24 horas. A partir destes, semeou-se uma alíquota em placas com ágar *Salmonella-Shigella* (SS), ágar Entérico de Hectoen (HE).

A partir da diluição 10^{-1} do balão utilizado para análise de coliformes, preparou-se diluições sucessivas de 10^{-2} e 10^{-3} utilizando tubos com 9 mL de água peptonada (AP) 0,1 %, para a determinação de *Staphylococcus aureus*. Em seguida, semeou-se 0,1 mL de cada diluição (10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3}) em doze placas contendo ágar Baird Parker (BP), sendo incubadas a 35°C por 48h.

Avaliação sensorial das formulações

As quatro formulações testadas tiveram suas características de sabor, cor, corpo e aceitação global avaliadas utilizando-se escala hedônica estruturada de nove pontos, na qual 9 representa “gostei muitíssimo”; 8, “gostei muito”; 7, “gostei moderadamente”; 6, “gostei ligeiramente”; 5, “nem gostei, nem desgostei”; 4, “desgostei ligeiramente”; 3, “desgostei moderadamente”; 2, “desgostei muito” e 1, “desgostei muitíssimo” e também foi avaliado a intenção de compra através de escala estruturada de cinco pontos, na qual 5 representa “certamente compraria”; 4, “provavelmente compraria”; 3, “tenho dúvidas se compraria”; 2, “provavelmente não compraria” e 1, certamente não “compraria”(14), aplicadas a 60 provadores não treinados.

As amostras foram apresentadas aos provadores de forma monádica, à temperatura de $9^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, em copos descartáveis codificados com números de três dígitos escolhidos de forma aleatória. Os provadores posicionados em cabines individuais foram orientados a observar as características globais e ao preenchimento das fichas de respostas.

Análise estatística

A análise estatística dos dados foi realizada através do “Statistical Analysis System” (15). O teste de comparação de média na análise sensorial foi feito pelo teste SNK (5% de significância). O delineamento experimental utilizado foi o de blocos completos inteiramente casualizados. Na avaliação química, para realizar o teste de comparação de médias, foi utilizado o teste de Tukey a 5% de significância.

RESULTADOS

Teste sensorial

O grau de aceitação e intenção de compra das amostras da bebida mista de goiaba e palma com diferentes teores de palma e de sólidos solúveis pode ser observado na Tabela 2, através dos valores hedônicos médios atribuídos a cada amostra.

Observa-se que todas as formulações foram bem aceitas sensorialmente, com médias das respostas situando-se entre “gostei moderadamente” e “gostei muito” para todos os atributos avaliados e, em relação a intenção de compra observou-se que os provadores provavelmente comprariam o produto. As médias não diferiram estatisticamente entre si ao nível de 5% de significância.

Análises químicas das formulações

A caracterização química dos sucos mistos encontra-se na Tabela 3. O parâmetro acidez em ácido cítrico revelou diferenças estatísticas entre os tratamentos, variando de 0,19% para a formulação A até 0,23% de ácido cítrico para a formulação D. Ainda sim, considerando os padrões de identidade e qualidade para néctar de goiaba, todas as

formulações encontram-se dentro dos padrões estabelecidos pela Legislação vigente.

TABELA 2
Análise sensorial das formulações de bebidas mista à base de goiaba e palma forrageira

Atributos	Formulações			
	A	B	C	D
Sabor	6,83 ^a	7,00 ^a	6,50 ^a	6,50 ^a
Cor	6,85 ^a	6,97 ^a	6,58 ^a	6,58 ^a
Corpo	6,65 ^a	7,03 ^a	6,88 ^a	6,88 ^a
Aceitação global	6,77 ^a	7,05 ^a	6,52 ^a	6,52 ^a
Intenção de compra	4,08 ^a	3,72 ^a	3,88 ^a	3,77 ^a

Letras iguais na mesma linha não diferem estatisticamente ao nível de 5% ($p < 0,05$). Valores hedônicos: 1 (desgostei muitíssimo) e 9 (gostei muitíssimo). Intenção de compra: 1 (certamente não compraria) e 5 (certamente compraria).

TABELA 3
Avaliação química das formulações da bebida mista de goiaba com palma

Formulação	Parâmetros					
	Acidez (g/100mL)	Ph	Vitamina C (mg/ 100mL)	AR (%)	ANR (%)	AT (%)
A	0,19 ^c	4,99 ^{ab}	88,06 ^b	3,86 ^a	9,03 ^a	12,89 ^a
B	0,20 ^{bc}	5,05 ^a	132,09 ^{ab}	4,12 ^a	10,35 ^a	14,47 ^a
C	0,22 ^{ab}	4,92 ^b	176,12 ^a	3,96 ^a	8,08 ^a	12,04 ^a
D	0,23 ^a	4,95 ^{ab}	176,12 ^a	4,23 ^a	9,99 ^a	14,22 ^a

AR: Açúcares redutores; ANR: açúcares não redutores; AT: açúcares totais. Letras iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente ao nível de 5% ($p < 0,05$).

O pH dos sucos mistos também mostrou diferenças significativas, cujos valores ficaram entre 4,92 e 5,05. A determinação de ácido ascórbico evidenciou diferenças significativas entre as amostras, destacando a presença duas vezes maior de vitamina C nas formulações C e D (132,09 mg ácido ascórbico/100 mL) em relação à amostra do suco misto A (88,06 mg ácido ascórbico/100 mL). Para este parâmetro, todas as formulações atendem aos padrões de identidade e qualidade para néctar de goiaba.

Em relação aos açúcares totais, redutores e não redutores, foi observado diferenças significativas, de modo que a formulação C apresentou os menores teores de açúcares, a formulação D obteve maior teor de açúcares redutores e a formulação B deteve maiores índices de açúcares não redutores e totais.

Análises microbiológicas

Os resultados mostram que em nenhuma formulação houve desenvolvimento de microrganismos (Tabela 4), estando, assim, de acordo com os padrões estabelecido pela legislação vigente (13).

TABELA 4
Análise microbiológica da bebida mista de goiaba com palma

Amostras	Coliformes Totais	Coliformes fecais	<i>Salmonella</i>	<i>Estaphylococcus aureus</i>
A	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência
B	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência
C	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência
D	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência

DISCUSSÃO

A utilização de mistura de frutas e/ou outros vegetais na elaboração de bebidas tem sido testada por outros autores com resultados positivos. A utilização da mistura de goiaba e palma na elaboração da bebida pode ser utilizada como um recurso para tornar a palma mais conhecida pelos consumidores, deixando de ter um consumo apenas de natureza étnica ou cunho regional (16), além de agregar ao produto as características funcionais, organolépticas e nutricionais deste cacto.

Observou-se que os valores de vitamina C encontrados nas formulações foram maiores nas amostras C e D, que possuem maior percentual de palma. Logo, pode-se afirmar que a palma promoveu um enriquecimento nutricional em relação à vitamina C quando misturada à goiaba.

Os dados demonstraram que essa mistura de palma é viável no incremento nutricional da vitamina C em bebidas, uma vez que os teores encontrados na bebida (88,06 – 176,12 mg/100mL) foram maiores que os valores encontrados na polpa de goiaba (67,86 mg/100mL) (17) e no suco de laranja (34,34 mg/100mL) (18), ambos já considerados boa fonte de vitamina C.

Tendo em vista que o resultado sensorial dos atributos avaliados não apresentou diferença significativa entre as quatro formulações, o parâmetro vitamina C torna-se um importante requisito para seleção da bebida com maior potencial para industrialização devido à sua importância para a saúde.

O painel sensorial desse experimento, composto de 60 provadores não treinados, mostrou-se mais significativo quando comparado aos estudos de Gouveia et al (19), e de Prati, Moretti e Cardello (20), nos quais pesquisou-se a aceitação sensorial de formulações de misturas de sucos de

frutas utilizando-se 35 provadores.

Embora as formulações C e D apresentem as mesmas concentrações de vitamina C (176,12 mg /100mL), a formulação C é a que apresenta um menor teor de sólidos, o que a torna a bebida com melhor potencial para industrialização levando-se em consideração que o custo de grandes quantidades de açúcar poderia tornar o produto oneroso do ponto de vista de processamento industrial.

A variação significativa na acidez ($p > 0,05$) demonstra que o aumento na concentração de polpa de palma proporciona um aumento na acidez das bebidas. De acordo com Asenjo (21) e Oliveira et al (22), a acidez varia proporcionalmente ao conteúdo de vitamina C, e portanto, quanto maior a quantidade de vitamina C, maior a acidez.

Os resultados de pH encontrados para a mistura de palma e goiaba variaram de 4,92 a 5,05, valores estes diferentes daqueles encontrados para o suco de goiaba, em média 3,63 (23). A palma possui pH neutro ou próximo de 7 (24) sendo, portanto, responsável pelo pH pouco ácido da bebida (25).

Em relação aos açúcares, observou-se uma variação entre os açúcares redutores. Segundo Bobbio e Bobbio (26), a sacarose é um dissacarídeo não-redutor, que em solução aquosa e em meio ácido é facilmente hidrolisado em monossacarídeos redutores, D-glicose e D-frutose. Esse mecanismo químico justifica a variação dos teores de açúcares redutores entre as formulações, uma vez que as bebidas foram acrescidas de açúcar (sacarose) e a acidez do meio propicia a hidrólise da sacarose. Além disso, o tempo e a temperatura do tratamento térmico também podem ter influenciado, visto que altas temperaturas influenciam no processo de hidrólise da sacarose (27).

A ausência de microrganismos na bebida indica que as condições higiênico-sanitárias durante o processamento foram adequadas e que o tratamento térmico empregado foi eficiente.

CONCLUSÕES

A mistura de goiaba com palma é viável na elaboração de bebidas mistas, dentro do processamento utilizado.

Todas as formulações testadas foram bem aceitas pelos provadores, não havendo diferença significativa entre as formulações ao nível de 5%. A formulação C além de boa aceitação, apresentou um aumento de vitamina C e utilizou uma menor concentração de açúcar, sendo por isso considerada como mais viável para elaboração da bebida.

As formulações testadas apresentaram padrões químicos e microbiológicos aceitáveis de acordo com as legislações vigentes, estando adequadas para consumo.

REFERÊNCIAS

1. Matsuura FCAU, Rolim RB. Avaliação da adição de suco de acerola em suco de abacaxi visando a produção de um blend com alto teor de vitamina C. *Rev Bras Frutic.* 2002; 24 (1):138-141.
2. Jain SK, Khurdiya DS. Vitamin C enrichment of fruit juice based ready-to-serve beverages through blending of Indian gooseberry (*Emblica officinalis Gaertn.*) juice. *Plant Foods Hum Nutr.* 2004;59(2):63-66.
3. Carvalho JM, Maia GA, Figueiredo RW, Brito ES, Garruti DS. Bebida mista com propriedade estimulante à base de água de coco e suco de caju clarificado. *Ciênc Tecnol Aliment.* 2005; 25(4):813-818.
4. Pereira FM, Martinez JRM. Goiabas para industrialização. Jaboticabal: Legis Summa; 1986. 142p.
5. Neto LG, Soares JM. Goiaba para exportação. Aspecto técnico da Produção. Brasília: Embrapa – SPI; 1996.
6. Amorim BC, Mota MMA, Simões VS, Silva FLH, Oliveira LSC. Estudo do enriquecimento protéico da mistura raquete e bagaço da fruta da palma forrageira. Disponível em: <<http://www.feq.unicamp.br/~cobeqic/resaceito/BT08.pdf>> Acesso em: 10 fev. 2005.
7. Flores-Flores V, Tekelenburg A. Produção de coranti dacti (*Dacylopius coccus Costa*). In: BARBERA, G.; INGLESE, P. (Eds.). Agroecologia, cultivos e usos da palma forrageira. Paraíba: SEBRAE/PB; 2001. p.169-186.
8. Guedes CC. Culinária com broto de palma. João Pessoa: Universitária; 2002. 53p.
9. Suassuna P. O Projeto Palma no trópico brasileiro. In: Seminário de tropicologia. 2004, Recife. Anais... [prelo].
10. Neto JXA, Medeiros FPM, Melo AJM, Dantas JP. Avaliação do efeito mutagênico da palma forrageira (*Opuntia ficus-indica Mill*) através do teste de micronúcleos em medula óssea de ratos (*Rattus novergicus*, linhagem Wistar) in vivo. *Revista de Biologia e Ciências da Terra;* 2005; 5 (2).
11. Brasil. Ministério da Agricultura. Instrução Normativa n.12 de 04 de setembro de 2003. Anexo III: Padrões de identidade e qualidade dos néctares de abacaxi, acerola, caju, goiaba, graviola, mamão, manga, maracujá, pêssego e pitanga. D. O. U. – Diário Oficial da União, Brasília (DF); 09 de setembro de 2003. Disponível em: <www.agricultura.gov.br>. Acesso em: 05 fev. 2007.
12. Instituto Adolfo Lutz. Normas analíticas do IAL: Métodos químicos e físicos para análise de Alimentos. 3. ed: São Paulo, 1985.
13. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001: Aprova o Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. D. O. U. – Diário Oficial da União, Brasília (DF); 10 de Janeiro de 2001. Disponível em: <<http://e-legis.bvs.br/leisref/public/showAct.php?id=144>>. Acesso em: 15 maio 2007.
14. Meilgaard M, Civille GV, Carr BT. Sensory Evaluation Techniques. Boca Raton: CRC Press; 1987. 159 p.
15. SAS Institute INC. SAS/STAT; user's guide: version 6, 4. ed. Cary; 1989: 2. 846p.

16. SEBRAE. Agroecologia, cultivo e usos da palma forrageira. Sebrae-PB; 2001.
17. Brunini MA, Oliveira AL, Varanda DB. Avaliação da qualidade de polpa de goiaba 'Paluma' armazenada a -20°C. *Rev Bras Frutic.* 2003;25(3):394-396.
18. Tavares JTQ, Silva CL, Carvalho LA, Silva M, Santos CMG. Estabilidade do ácido ascórbico em suco de laranja submetido a diferentes tratamentos. *Rev Magistra* 2000;12(1-2):1-4.
19. Gouveia DS, Mata MERMC, Duarte MEM, Ugulino SMP. Avaliação físico-química e teste de aceitação sensorial do suco de pinha e do blend pinha-leite. *Revista Brasileira de Produtos Agropecuários* 2006;8(2):127-133.
20. Prati P, Moretti RH, Cardello HMAB. Elaboração de bebida composta por mistura de garapa parcialmente clarificada-estabilizada e sucos de frutas ácidas. *Ciência e Tecnologia de Alimentos* 2005;25(1):147-152.
21. Asenjo CF. La ciência moderna: aspectos químicos para nutritivos de la acerola (*Malpighia puniceifolia* L.) *Ciência – Revista Hispano Americana de Ciências Puras y Aplicadas*, México 1959;19(6-7):109-119.
22. Oliveira MEB, Bastos MSR, Feitosa T, Branco MAAC, Silva MGG. Avaliação de parâmetros de qualidade físico-químicos de polpas congeladas de acerola, cajá e caju. *Ciênc Tecnol Aliment.* 1999;19(3):326-332.
23. Pinheiro AM, Fernandes AG, Sousa PHM, Fai AEC, Maia GA. Estudos dos padrões de identidade e qualidade de suco não adoçado de goiaba (*Psidium guajava*) de cinco marcas comerciais. In: XVIII Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2004, Recife. Anais. Campinas, SBCTA, 2004.
24. Chiacchio FPB, Mesquita AS, Santos JR. Palma forrageira: uma oportunidade econômica ainda desperdiçada para o Semi-árido baiano. *Bahia Agrícola* 2006; 7(3):39-49.
25. Evangelista J. *Tecnologia de alimentos*. São Paulo: Atheneu, 2003.
26. Bobbio FO, Bobbio FO. *Introdução à química de alimentos*. São Paulo: Varela, 1992.
27. Silva RA. *Desenvolvimento e estabilidade de néctar de caju adoçado com mel de abelha *Apis mellifera**. (Dissertação). Fortaleza: Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará, 2006.

Recibido: 25-05-2010

Aceptado:08-08-2010

Barras de amaranto enriquecidas com frutanos: aceitabilidade e valor nutricional

Vanessa Dias Capriles, José Alfredo Gomes Arêas

Departamento de Nutrição. Faculdade de Saúde Pública Universidade de São Paulo (USP). Brasil

RESUMO. Existe uma demanda por alimentos de conveniência com benefícios potenciais à saúde do consumidor. Matérias primas de elevado valor nutritivo e com propriedades funcionais devem ser utilizadas no desenvolvimento desses produtos. O amaranto é um grão de elevado valor nutritivo e isento de glúten. Inulina e oligofrutose são ingredientes prebióticos; que possuem outros efeitos, como o aumento da absorção de cálcio. Barras de amaranto enriquecidas com inulina e oligofrutose foram desenvolvidas nos sabores banana, castanha do Pará e uva passa, coco, damasco, morango e nozes. A composição centesimal foi avaliada e comparada às das barras comerciais, disponíveis nas categorias tradicional (n=59), light (n=60), diet (n=8), à base de soja (n=10) e quinoa (n=1). As barras de amaranto apresentaram média de aceitação global variando de 6,3 a 7,6, numa escala hedônica estruturada de nove pontos, e vantagens nutricionais em relação às barras de cereais comerciais (redução calórica e alto teor de fibras). Apesar de o amaranto ser desconhecido no Brasil, este apresenta bom potencial para o desenvolvimento de alimentos prontos para o consumo. Por serem isentas de glúten estas barras são inclusive uma alternativa para os celíacos, podendo contribuir para o aumento da absorção de cálcio, problema frequentemente observado nessa população.

Palavras chave: *Amaranthus cruentus*, frutanos do tipo inulina, barras de cereais, doença celíaca.

SUMMARY. Amaranth bars enriched with fructans: acceptability and nutritional value. There is an increasing appeal for convenience foods with potential health benefits to the consumer. Raw materials with high nutritional value and functional properties must be used on the development of these food products. Amaranth is a gluten-free grain with high nutrition value. Inulin and oligofructose are prebiotic ingredients presenting effects as the enhancement of calcium absorption. Amaranth bars enriched with inulin and oligofructose were developed in the flavors: banana, Brazilian nuts and dried grape, coconut, peach, strawberry and wall nut. The proximate composition were determined and compared to commercial cereal bars, available in traditional (n=59), light (n=60), diet (n=8), with soy (n=10) and quinoa (n=1) categories. Amaranth bars present mean global acceptance values from 6.3 to 7.6 on a 9-point hedonic scale, nutritional advantages as compared to commercial cereal bars (caloric reduction and higher levels of dietary fiber). Although amaranth is an unknown raw material in Brazil, it shows good potential to be used in the manufacturing of ready-to-eat products. As they are gluten free, these amaranth bars are also an alternative product for celiacs, also contributing to the enhancement of calcium absorption, a problem frequently observed in these patients.

Key words: *Amaranthus cruentus*, inulin-type fructans, cereal bars, celiac disease.

INTRODUÇÃO

As alterações na rotina diária de parte da população têm provocado uma crescente demanda por produtos de conveniência prontos para consumo. O aumento do conhecimento da relação dieta/saúde fez com que os consumidores buscassem além de conveniência e características sensoriais agradáveis, alto valor nutritivo e benefícios adicionais à saúde em alimentos industrializados. O crescimento substancial do mercado de barras de cereais nas últimas décadas deve-se ao desenvolvimento de produtos inovadores, através de fortificações com vitaminas e minerais, incorporação de compostos bioativos e ao fato dos consumidores associarem as barras a produtos saudáveis (1-3).

A variedade de atributos sensoriais e a procura de benefícios à saúde permitem uma grande possibilidade de diversificação desse produto. Entretanto, mesmo com estas possibilidades, a população celíaca é excluída do consumo de

barras de cereais, uma vez que as formulações apresentam ingredientes derivados de cereais que contêm glúten, como flocos de aveia, farelo de trigo e malte.

A doença celíaca não tem cura e apresenta como único tratamento a dieta isenta de glúten que deve ser seguida por toda a vida, prevenindo uma série de complicações, como os prejuízos nutricionais e os cânceres do tubo digestivo (4). Dentre as complicações frequentes da doença celíaca encontra-se a reduzida densidade mineral óssea, fazendo com que o risco de fraturas seja 27% maior que o restante da população (5). Os celíacos apresentam má absorção de cálcio devido aos menores níveis da calbidin-D9k, proteína responsável pelo transporte deste mineral através do enterócito. Esta proteína é praticamente indetectável nos celíacos não tratados, e nos indivíduos em tratamento é encontrado apenas um quarto dos valores normais (6).

São frequentes as dificuldades para dar seqüência ao tratamento, devido à escassez de produtos isentos de glúten e à aquisição e preparo de produtos que não fazem parte do

hábito familiar (7). Assim, o desenvolvimento de novos produtos para esta população é fundamental. Isso pode ser feito por meio da incorporação de ingredientes que contribuem para o aumento da absorção de cálcio, como os frutanos inulina e oligofrutose (8), e matérias primas isentas de glúten e com valor nutritivo agregado, como o grão de amaranto (10).

Os frutanos do tipo inulina são fibras alimentares solúveis, que podem contribuir com o aumento da absorção de cálcio através da absorção colônica (8,9); efeito que pode ser especialmente importante para os celíacos, uma vez que a absorção de cálcio no intestino delgado está prejudicada nestes indivíduos (6).

Por apresentar elevado valor nutritivo e não conter glúten, o grão de amaranto é uma matéria-prima atraente para a elaboração de produtos para celíacos. O grão de *Amaranthus cruentus* L. apresenta cerca de 60% de amido, 15% de proteína, 13% de fibra, 8% de lipídios e 4% de cinzas (10). Além dos maiores teores de proteína e fibra alimentar, também apresenta teores de minerais superiores aos observados na maioria dos grãos de cereais (11).

Assim, o objetivo deste trabalho foi o de desenvolver barras de amaranto enriquecidas com inulina e oligofrutose, e caracterizá-las quanto à aceitabilidade sensorial e também quanto ao valor nutricional em comparação às barras de cereais disponíveis no mercado nacional.

MATERIAIS E MÉTODOS

Ingredientes

Foram utilizados grãos de *Amaranthus cruentus* adquiridos de um produtor local de Brasília, Brasil. Os grãos foram estourados através de aquecimento em superfície com temperatura de 90°C por cerca de 10-15 segundos (10, 12). O amaranto laminado foi adquirido de um fornecedor boliviano (Sociedad Agropecuaria Industrial y Tecnica, La Paz, Bolivia). As proporções de amaranto estourado e laminado (1:1) nas formulações foram padronizados através de testes sensoriais prévios.

Foram selecionados para testes os sabores mais indicados por 132 consumidores de barras de cereais: banana (39%), morango (30%), castanha do Pará e uva passa (20%), coco (12%), nozes (11%) e damasco (11%). A aplicação de chocolate foi indicada por 33% dos provadores, mas não foi testada para evitar que este ingrediente pudesse mascarar o sabor das barras.

Banana passa, coco ralado desidratado, castanha do Pará, uva passa, damasco desidratado, nozes, lecitina de soja, sucralose (10 mg/ g ingrediente) e xarope de sorbitol foram adquiridos no mercado local. Foram gentilmente cedidas amostras da mistura de inulina e oligofrutose (Beneo™ Synergy I, Orafiti N.V., Tienen, Bélgica), de colágeno hidrolisado (Hidrogel® B50, Gelita do Brasil Ltda, São Paulo,

Brasil), de morango liofilizado (Liotécnica Tecnologia em Alimentos Ltda. São Paulo, Brasil), e dos aromas de banana e coco (Lapiendrius Indústria e Comércio Ltda., São Paulo, Brasil), morango (Sabores e Aromas Alimentos Ltda., Rio de Janeiro, Brasil), mel e damasco (Duas Rodas Industrial Ltda., Santa Catarina, Brasil).

Formulação e produção das barras

Considerando a associação entre a doença celíaca e o diabetes tipo I (13) as barras de amaranto foram desenvolvidas sem a adição de açúcares. Para isso, foi utilizada a mistura de inulina e oligofrutose, colágeno hidrolisado e sorbitol como agente de corpo, associada à sucralose, um edulcorante de alta intensidade. Os níveis de sorbitol e sucralose presentes nas formulações estão de acordo com a Resolução n. 18 de 24 de março de 2008 que institui o Regulamento Técnico que autoriza o uso de aditivos edulcorantes em alimentos, com seus respectivos limites máximos (14).

A proporção entre o agente de ligação e os ingredientes secos foi de 40:60, padronizada em testes preliminares. A formulação básica das barras está ilustrada na Tabela 1, com exceção do produto no sabor morango. Barras formuladas com 17,9% de morango liofilizado não foram viáveis devido ao seu forte sabor. Por isso, a mistura de ingredientes secos foi constituída por 25% de amaranto estourado, 25% de amaranto laminado, 9,84% de morango liofilizado e 0,16% de aroma de morango.

TABELA 1

Ingredientes utilizados para a produção das barras de amaranto (g/100g)

Ingredientes	Ingredientes secos		Xarope de ligação	
	Ingredientes	Peso (g)	Ingredientes	Peso (g)
Amaranto estourado		21,00	Inulina e oligofrutose	17,00
Amaranto laminado		21,00	Xarope de sorbitol	16,00
Frutas e castanhas		17,9	Colágeno hidrolisado	5,68
Aromas		0,10	Sucralose	1,00
			Lecitina de soja	0,32

Os ingredientes secos, previamente misturados, foram incorporados à mistura aquecida do xarope de ligação (90-98°C). A seguir, a massa homogênea foi acondicionada em bandejas, prensada e laminada, com o auxílio de um rolo. Após o resfriamento (25°C), as barras foram cortadas em porções de 12,5g (obtendo-se 50 mini-barras para cada formulação) e embaladas em sacos de polietileno codificados com três dígitos aleatórios, e armazenadas a temperatura ambiente por um dia até a análise sensorial.

Avaliação da aceitabilidade sensorial

Foi aplicado um teste afetivo com escala hedônica estruturada de nove pontos, 1 – desgostei muitíssimo, 5 – não gostei/ nem desgostei, 9 – gostei muitíssimo (15) para avaliar o impacto dos sabores utilizados na aceitação da aparência, da textura, do sabor e a aceitação global das barras de amaranto.

Consumidores de barras de cereais (providores não treinados) foram recrutados entre funcionários, estudantes e visitantes da Instituição (61 mulheres e 5 homens com idade entre 17 e 55 anos). As amostras embaladas em sacos de polietileno codificados com três números aleatórios foram entregues aos provedores, juntamente com a ficha de avaliação e um copo de água para a neutralização entre as amostras. Cada provedor avaliou três produtos, que foram apresentados de forma monádica e seqüencial, utilizando o delineamento inteiramente casualizado.

Determinação da composição centesimal e cálculo do valor calórico

Os teores de umidade, cinzas, lipídeos e proteína foram determinados de acordo com os métodos 950.46, 923.03, 920.39C e 960.52 da AOAC (16), respectivamente. Amido total foi quantificado através de hidrólise enzimática e determinação espectrofotométrica da glicose liberada (amido = glicose x 1,1) segundo Goñi et al. (17), sendo descontada a concentração de 85µg de glicose/ g de barra, equivalente leitura ocasionada pela quantidade de sorbitol e sucralose na formulação.

A fibra alimentar foi determinada através do método enzimático-gravimétrico para determinação das frações solúvel e insolúvel de acordo com Prosky et al. (18) com modificações de Mc Cleary e Rossiter (19) para remoção completa dos frutanos através da adição da mistura de frutanases parcialmente purificadas (Megazyme, Cat. No. E-FRXLQ). Evitando-se assim a quantificação subestimada da fração solúvel, uma vez que os frutanos de baixo peso

molecular não seriam determinados através da metodologia convencional. Paralelamente foi realizada a determinação de frutanos totais através de método enzimático-colorimétrico (19), e a soma das duas determinações representa o teor de fibra alimentar solúvel presente nas amostras. Todas as determinações foram realizadas em triplicata.

O valor calórico foi calculado através dos fatores de conversão de ATWATER: 4 kcal/g (17 kJ/g) para proteínas, 4 kcal/g (17 kJ/g) para carboidratos e 9 kcal/g (37 kJ/g) para lipídios (20), o fator de conversão de 1,5 kcal/g (6,3 kJ/g) para os frutanos, já que estes podem fornecer energia através da absorção dos produtos de sua fermentação no cólon (21) e o fator de conversão de 2,4 kcal/g (10 kJ/g) para o sorbitol (22).

Valor nutricional de barras de cereais disponíveis no mercado

Foram avaliados o valor calórico e teor de macronutrientes declarados nos rótulos de 138 barras de cereais comercializadas no município de São Paulo em 2008.

Análise de dados

Os resultados foram expressos como média e desvio padrão. Para comparação de médias, os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e ao pós-teste de Tukey. A análise estatística foi realizada com o auxílio do software MINITAB 15.0 (Minitab Inc.), adotando-se nível de significância de $p < 0,05$.

RESULTADOS

Os resultados da Tabela 2 mostram que todas as formulações desenvolvidas foram aceitas sensorialmente e apresentaram médias dos valores hedônicos compreendidas entre 6 e 8 que indicam “gostei ligeiramente” e “gostei muito”, respectivamente.

TABELA 2
Aceitabilidade sensorial das barras de amaranto segundo o sabor

Aceitação	Amostras					
	Banana	Castanha e uva passa	Coco	Damasco	Morango	Nozes
Aparência	7,3 ^a ±1,3	7,2 ^a ±1,2	7,1 ^a ±1,4	6,8 ^a ±1,6	7,1 ^a ±1,9	6,8 ^a ±1,3
Textura	7,6 ^a ±1,3	7,2 ^{ab} ±1,3	6,8 ^{ab} ±1,8	7,0 ^{ab} ±1,5	6,5 ^b ±1,5	7,2 ^{ab} ±1,3
Sabor	7,7 ^a ±1,3	7,1 ^{ab} ±1,7	7,4 ^{ab} ±1,1	6,9 ^{ab} ±1,5	6,5 ^b ±2,2	6,6 ^{ab} ±1,6
Global	7,6 ^a ±1,1	7,1 ^{ab} ±1,4	7,2 ^{ab} ±1,2	6,8 ^{ab} ±1,4	6,3 ^b ±2,0	6,7 ^{ab} ±1,4

* Média e desvio padrão de sessenta e seis provedores.

‡ Mesmas letras na linha indicam não haver diferença significativa entre as amostras ($p < 0,05$)

Quanto à composição centesimal (Tabela 3) destacam-se o maior teor de lipídios, menor teor de amido e maior valor calórico das barras elaboradas com castanha do Pará, coco e nozes em relação às barras elaboradas com frutas; o que se deve a composição destas matérias primas. Os maiores teores de proteínas e fibras encontrados na barra no sabor morango devem-se aos maiores níveis de amaranto nesta formulação.

A Tabela 4 apresenta a comparação do valor calórico e do teor de macronutrientes das barras de amaranto e das barras de cereais comerciais. As barras comerciais foram agrupadas de acordo com as alegações apresentadas em seus rótulos em quatro categorias: “tradicional”, “light”, “diet” e as barras elaboradas com soja. Também foram coletados os dados da barra elaborada com grãos de quinoa, crispies de arroz e frutas,

pois esta é a única barra isenta de glúten disponível no mercado brasileiro atualmente.

Para a substituição de açúcares e gorduras na formulação das barras comerciais do tipo “diet” e de algumas do tipo “light” foram utilizados os polióis (sorbitol, maltitol e lactitol), a polidextrose, a goma arábica, a goma acácia e o colágeno hidrolisado como agentes de corpo, e os edulcorantes de alta intensidade sucralose, stévia, ciclamato de sódio e acessulfame de potássio; de acordo com as listas de ingredientes presentes nas embalagens.

O teor de carboidratos das barras de amaranto e das comerciais do tipo “diet” e “light” correspondem à soma da quantidade de amido, açúcares e polióis na porção.

TABELA 3
Valor calórico e composição centesimal (g/100g base seca) das barras de amaranto segundo o sabor

	Amostras					
	Banana	Castanha e uva passa	Coco	Damasco	Morango	Nozes
Valor calórico* (kcal)	249,64	293,93	317,91	246,49	255,33	326,09
Valor calórico* (kJ)	1041,01	1225,70	1325,69	1027,85	1064,71	1359,80
Umidade*	17,19 ^a ±0,38	13,74 ^b ±0,12	11,17 ^d ±0,34	17,48 ^a ±0,41	13,37 ^b ±0,11	12,17 ^c ±0,09
Cinzas	1,80 ^{ab} ±0,11	1,62 ^{ab} ±0,11	1,53 ^{ab} ±0,30	1,90 ^a ±0,49	1,64 ^{ab} ±0,14	1,25 ^b ±0,07
Lipídeos	3,57 ^d ±0,12	11,47 ^c ±0,01	14,52 ^b ±0,06	3,70 ^d ±0,11	3,15 ^d ±0,07	15,90 ^a ±0,38
Proteína	13,56 ^c ±0,08	15,05 ^{ab} ±0,18	14,19 ^{bc} ±0,20	14,09 ^c ±0,47	15,72 ^a ±0,25	14,50 ^{bc} ±0,32
Amido	37,12 ^a ±0,54	28,43 ^b ±1,13	27,04 ^b ±0,95	35,65 ^a ±2,19	34,52 ^a ±2,85	26,76 ^b ±0,99
Fibra total	29,17	27,54	27,46	28,3	29,21	26,17
Fibra insolúvel	5,88 ^c ±0,14	6,81 ^b ±0,21	6,29 ^{bc} ±0,04	7,44 ^a ±0,35	7,71 ^a ±0,30	5,20 ^d ±0,17
Fibra solúvel	23,29	20,73	21,17	20,86	21,5	20,97
Frutanos	20,69 ^a ±0,60	18,89 ^b ±0,54	18,99 ^b ±0,35	18,72 ^b ±0,47	19,12 ^{ab} ±0,00	19,38 ^{ab} ±0,75
Outros compostos	2,60 ^d ±0,13	1,84 ^{cd} ±0,14	2,18 ^b ±0,20	2,14 ^{bc} ±0,08	2,38 ^{ab} ±0,11	1,59 ^d ±0,15

* valores em base integral

‡ Média e desvio padrão de três determinações. Mesmas letras na linha indicam não haver diferença significativa entre as amostras (p<0,05)

TABELA 4
Valor nutricional por porção (25g) das barras de amaranto e das barras comercializadas no município de São Paulo, 2008

	Barras de amaranto						Barras comerciais				
	Banana	Castanha	Coco	Damasco	Morango	Nozes	Tradicional (n= 59)	“light” (n= 60)	“diet” (n= 8)	Soja (n=10)	Quinoa (n= 1)
Valor calórico (kcal)	62,4	73,5	79,5	61,6	63,8	81,5	94,5 ±8,4	84,2 ±7,0	72,1 ±10,1	89,3 ±11,3	89,0
Valor calórico (kJ)	260,2	306,4	331,4	257,0	266,2	339,9	398,6 ±35,5	350,7 ±50,4	310,4 ±47,4	375,0 ±47,6	377,0
Carboidratos (g)	11,3	9,9	9,8	11,0	11,2	9,7	16,7 ±1,9	16,1 ±1,7	17,1 ±1,8	13,4 ±2,0	15,0
Proteínas (g)	2,7	3,1	3,1	2,8	3,3	3,1	1,4 ±0,6	1,2 ±0,3	1,3 ±0,5	3,3 ±2,1	2,4
Lipídios (g)	0,7	2,4	3,1	0,7	0,7	3,4	2,5 ±1,0	1,8 ±0,7	0,8 ±1,1	2,6 ±1,2	2,2
Fibra alimentar (g)	6,1	6,0	6,0	6,0	6,3	5,6	1,4 ±0,8	1,9 ±1,6	1,9 ±0,9	2,1 ±1,6	3,2

DISCUSSÃO

Muñoz et al. (23) consideram o valor seis na escala hedônica estruturada de nove pontos como um limite de qualidade e de comercialização para alimentos. Com base neste critério, todas as amostras apresentaram elevado potencial de comercialização, uma vez que 97%, 85%, 88%, 85%, 67% e 88% dos provadores atribuíram valores de aceitação global maiores ou iguais a seis para as barras nos sabores banana, castanha do Pará e uva passa, coco, damasco, morango e nozes, respectivamente.

Todas as formulações apresentaram elevado teor de fibra alimentar, cerca de 28%. A quantidade de frutanos equivale a 4,2g por porção (25g), ou seja, não houve perdas significativas durante o processamento. As formulações foram enriquecidas de modo a apresentar 4g da mistura de inulina e oligofrutose por porção de 25g, uma vez que foi observado efeito prebiótico através da ingestão diária desta quantidade de frutanos (24, 25), e aumento da absorção de cálcio em adolescentes através do consumo diário de 8g destes compostos (8).

Outros pesquisadores utilizaram o amaranto estourado na formulação de barras de cereais, em níveis que correspondiam a 6% (26), 12% (27), 16 a 19% (28) e 47% (29) do produto. O presente estudo é o primeiro em que o amaranto foi utilizado isoladamente para compor a mistura de grãos na formulação de barras de cereais, e também no qual foi testada a sua combinação com diferentes frutas e oleaginosas. Devido ao maior teor de amaranto (42%), ao uso de colágeno hidrolisado e ao enriquecimento com inulina e oligofrutose, as formulações desenvolvidas apresentaram maiores teores de proteína e fibra alimentar e menores quantidades de amido em relação às barras com amaranto desenvolvidas pelos autores acima citados. A substituição de açúcares e de lipídios na composição do xarope de ligação justifica o menor valor calórico das barras de amaranto elaboradas no presente estudo em relação às barras previamente desenvolvidas.

Ao se comparar o valor nutricional das barras comerciais com as por nós produzidas, observou-se que as da categoria “light” apresentaram em média 30% de redução do teor de lipídios e 11% de redução calórica em relação às tradicionais. Desta forma nossos produtos podem ser considerados “light” em gordura, uma vez que apresentaram redução maior que 25% deste nutriente, de acordo com o Regulamento Técnico referente à Informação Nutricional Complementar, Portaria nº 27, de 13 de janeiro de 1998 (30).

As barras “diet” foram formuladas através da substituição de açúcares e de gorduras, e por isso obtiveram em média redução de 24% do valor calórico e de 70% do teor de lipídios em relação às tradicionais. Observou-se que tanto as barras “light” quanto as “diet” continham maiores teores de fibra alimentar que as tradicionais, devido à utilização de

polidextrose, um tipo de fibra alimentar solúvel, como substituto de açúcares e de gorduras.

As barras de soja e quinoa comerciais apresentam valor calórico e teor de lipídios compatíveis com o segmento das tradicionais, no entanto, se destacam pelos maiores teores de proteínas e fibra alimentar, nutrientes encontrados em maiores quantidades nestas matérias-primas do que nos cereais.

Os consumidores associam as barras de cereais a produtos saudáveis, por apresentarem fibra alimentar em sua composição (31). Entretanto, observou-se grande variação, de 0 a 5,9g de fibra/ porção das barras comerciais.

A Portaria nº 27, de 13 de janeiro de 1998, estabelece o teor mínimo de 3% de fibra no alimento para o uso da alegação “fonte de fibra” e o teor mínimo de 6% para o uso da alegação “alto teor de fibra” (30). Assim, 53,6% das barras de cereais comercializadas podem utilizar a alegação “fonte de fibra” e 33,4%, a alegação “alto teor de fibra”. E 25% das barras comercializadas podem utilizar a alegação de funcionalidade atribuída às fibras alimentares: “As fibras alimentares auxiliam o funcionamento do intestino. Seu consumo deve estar associado a uma dieta equilibrada e hábitos de vida saudáveis”; uma vez que cumprem a exigência de apresentar mais de 3g de fibras alimentares na porção (32).

Quanto às barras de amaranto observou-se que os produtos nos sabores banana, damasco e morango podem ser classificados como “light”, uma vez que apresentam redução calórica média de pelo menos 32%, ou seja, redução de 20,3 a 44,5 kcal/100g em relação às tradicionais. As barras de amaranto nos sabores castanha do Pará e uva passa, coco e nozes são consideradas do segmento de barras “tradicionais” por apresentarem valor calórico e teor de lipídios próximo a média do valor encontrado para as barras comerciais desta categoria.

As barras de amaranto apresentaram menor teor de carboidratos que as barras de cereais comerciais e quase o triplo do teor de proteína que as tradicionais, “diet” e “light”. O maior teor de proteína deve-se ao uso de colágeno hidrolisado em níveis correspondentes a 1,42 g/porção. Estes níveis de proteínas são próximos aos observados nas barras de soja e de quinoa.

As barras de amaranto foram enriquecidas com inulina e oligofrutose, por isso apresentam, em média, o quádruplo do teor de fibra das barras “tradicionais”, o triplo das “light”, “diet” e a base de soja e o dobro da de quinoa. Pode-se utilizar a alegação de “alto teor de fibra” para as barras de amaranto, de acordo com a Portaria nº 27, de 13 de janeiro de 1998 (30), e a alegação de funcionalidade relacionada à inulina e oligofrutose: “A inulina e os frutooligosacarídeos – FOS contribuem para o equilíbrio da flora intestinal. Seu consumo deve estar associado a uma dieta equilibrada e hábitos de vida saudáveis.”, uma vez que cumpre a exigência da porção diária do produto pronto para consumo apresentar mais de 3g destas fibras (32).

Estudos revelaram que as barras de cereais tradicionais podem ser consideradas um pouco mais saudáveis que os confeitos convencionais, sendo o teor de fibra a principal diferença entre estes produtos (1,2). Bower e Whitten (2) apontaram a necessidade de modificações na formulação das barras de cereais para que este produto pudesse competir no mercado crescente de snacks saudáveis. Formulações já foram modificadas com intuito de reduzir o valor calórico, o teor de gordura e o de açúcares e estão disponíveis no mercado atualmente nas versões “light” e “diet”. Porém, devido à elevada aceitação pelos consumidores, as barras tradicionais também continuam disponíveis.

É importante que a população seja informada da variação existente entre as barras de cereais, não só em termos de valor calórico e conteúdo de lipídios e açúcares. Em média, as barras “tradicionais” e as barras de soja apresentam teor de lipídios maior do que o de fibras, por se utilizar gordura, óleo vegetal e/ou chocolate em sua formulação. As barras “light” contêm praticamente teores equivalentes de lipídios e de fibras. Apenas 17,5% das barras comercializadas possuem teores consideráveis de fibra alimentar (≥ 3 g/porção).

Devido à possibilidade de diversificação deste tipo de produto, oportunidades existem para a incorporação de ingredientes de valor nutricional e funcional, atendendo a expectativa dos consumidores, que associam as barras de cereais a produtos saudáveis, e também para a utilização de ingredientes não convencionais, como o grão de amaranto, originando barras de cereais com diferentes características sensoriais e nutricionais.

CONCLUSÃO

Foi possível obter barras a base de amaranto integral, em seis diferentes sabores, com elevada aceitabilidade sensorial. Essas barras apresentam vantagens nutricionais em relação às disponíveis no mercado (redução calórica e alto teor de fibras), e propriedades funcionais, atendendo a crescente demanda por alimentos que associem conveniência a saúde.

As barras de amaranto enriquecidas com inulina e oligofrutose podem contribuir para uma maior adesão dos celíacos a dieta isenta de glúten e também para auxiliar no aumento da absorção de cálcio, problema frequentemente observado nesta população.

AGRADECIMENTOS

À Ana Paula Gines Geraldo e a Profa. Dra. Elizabeth Machado Pinto e Silva pela contribuição técnica e pelas sugestões durante o desenvolvimento das barras. Aos voluntários que participaram da análise sensorial. Às indústrias que cederam amostras de seus ingredientes para a realização deste trabalho. À Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado

de São Paulo pela concessão da bolsa de doutorado direto 04/14127-3.

REFERÊNCIAS

1. Boustani P, Mitchell VW. Cereal bars: a perceptual, chemical and sensory analysis. *Br Food J.* 1990; 92(5):17-22.
2. Bower JA, Whitten R. Sensory characteristics and consumer liking for cereal bar snack foods. *J Sensory Stud.* 2000;15(3): 327-345.
3. Gonzalez E, Draganchuk M. Flavoring nutrition bars. *Cereal Foods World.* 2003; 48(5):250-251.
4. Rewers M. Epidemiology of celiac disease: what are the prevalence, incidence, and progression of celiac disease? *Gastroenterology.* 2005;128(Suppl 1):S47-51.
5. Olmos M, Antelo M, Vazquez H, Smecuol E, Mauriño E, Bai J. Systematic review and meta-analysis of observational studies on the prevalence of fractures in coeliac disease. *Dig Liver Dis.* 2008;40(1): 46-53.
6. Capriles VD, Martini LA, Arêas JAG. Metabolic osteopathy in celiac disease: importance of a gluten-free diet. *Nutr Rev.* 2009; 67(10):599-606.
7. Lee A, Newman J. Celiac diet: its impact on quality of life. *J Am Diet Assoc.* 2003; 103(11): 1533-1535.
8. Abrams S, Griffin I, Hawthorne K, Liang L, Gunn S, Darlington G, et al. A combination of prebiotic short- and long-chain inulin-type fructans enhances calcium absorption and bone mineralization in young adolescents. *Am J Clin Nutr.* 2005; 82(2): 471-476.
9. Abrams S, Hawthorne K, Aliu O, Hicks P, Chen Z, Griffin I. An inulin-type fructan enhances calcium absorption primarily via an effect on colonic absorption in humans. *J Nutr.* 2007; 137(10): 2208-2212.
10. Capriles VD, Coelho KD, Guerra-Matias AC, Arêas JAG. Effects of processing methods on amaranth starch digestibility and predicted glycemic index. *J Food Sci.* 2008; 73(7): H160-H164.
11. Gamel TH, Linssen JP, Mesallam AS, Damir AA, Shekib LA. Effect of seed treatments on the chemical composition of two amaranth species: oil, sugars, fibres, minerals and vitamins. *J Sci Food Agr.* 2006; 86(1): 82-89.
12. Queiroz YS, Soares RAM, Capriles VD, Torres EAFS, Arêas JAG. Efeito do processamento na atividade antioxidante do grão de amaranto (*Amaranthus cruentus* L. BRS-Alegria). *Arch. Latinoam. Nutr.* 2009; 59(4): 419-424.
13. Murray JA. Celiac disease in patients with an affected member, type 1 diabetes, iron-deficiency, or osteoporosis? *Gastroenterology.* 2005; 128(Suppl 1): S52-56.
14. BRASIL. Resolução n. 18, de 24 de março de 2008. Regulamento Técnico que autoriza o uso de aditivos edulcorantes em alimentos, com seus respectivos limites máximos. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 25 mar. 2008.*
15. Stone H, Sidel JL. *Sensory Evaluation Practices.* London: Academic Press; 1985.

16. AOAC – Association of Official Agricultural Chemists. Official Methods of the AOAC International. 18 ed. AOAC, editor. Maryland, 2005.
17. Goni I, Garcia-Alonso A, Saura-Calixto F. A starch hydrolysis procedure to estimate glycemc index. *Nutr Res.* 1997; 17(3): 427-437.
18. Prosky L, Asp NG, Schweizer TF, DeVries JW, Furda I. Determination of insoluble, soluble and a total dietary fiber in foods and foods products: intralaboratory study. *JAOAC*, 1988; 71(5): 1017-1023.
19. McCleary B, Rossiter P. Measurement of novel dietary fibers. *JAOAC*. 2004; 87(3): 707-717.
20. Merrill AL, Watt BK. Energy value of foods: basis and derivation, revised. US Department of Agriculture, Agriculture Handbook 74; 1973. Disponível em: <http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/Data/Classics/index.html> Acesso em: 28 abr. 2010.
21. Roberfroid MB. Caloric value of inulin and oligofructose. *J Nutr.* 1999; 129(Suppl 1): 1436S-1437S.
22. BRASIL. Resolução n. 360, de 23 de dezembro de 2003. Regulamento Técnico sobre Rotulagem Nutricional de Alimentos Embalados. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 26 dez. 2003.
23. Muñoz AM, Cville VG, Carr BT. Sensory evaluation in quality control. New York: Van Nostrand Reinhold; 1992.
24. Roberfroid MB. Concepts in functional foods: The case of inulin and oligofructose. *J Nutr.* 1999; 129(7): 1398S-1401S.
25. Rao VA. The prebiotic properties of oligofructose at low intake levels. *Nutr Res.* 2001; 21(6): 843-848.
26. Escobar B, Estévez AM, Vásquez M, Castillo E, Yañez E. Barras de cereales maní y amaranto dilatado: composición química y estabilidad en almacenamiento acelerado. *Arch Latinoam Nutr.* 1994; 44(1): 36-40.
27. Escobar B, Estevez A, Tepper A, Aguayo M. Nutritional characteristics of cereal and peanut bars. *Arch Latinoam Nutr.* 1998; 48(2): 156-159.
28. Tosi E, Ciappini MC, Lucero H, Masciarelli R. Desarrollo de una golosina de alto valor proteico a partir de amaranto, otros cereales y oleaginosas. *Alimentaria.* 2005 (366): 75-81.
29. Coelho KD. Desenvolvimento e avaliação da aceitação de cereais matinais e barras de cereais à base de amaranto (*Amaranthus cruentus* L). Dissertação (Mestre em Nutrição Humana Aplicada) Universidade de São Paulo, 2006 106p.
30. BRASIL. Portaria n. 27, de 13 de janeiro de 1998. Regulamento Técnico referente à Informação Nutricional Complementar. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 16 jan. 1998.
31. Murphy P. Countlines and cereal bar. In: Jackson EB, editor. Sugar confectionery manufacture. London: Blackie Academic & Professional; 1995. p. 287-97.
32. BRASIL. Lista das alegações aprovadas para Alimentos com Alegações de Propriedades Funcionais e ou de Saúde, Novos Alimentos/Ingredientes, Substâncias Bioativas e Probióticos. Publicado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/teco_lista_alega.htm Acesso em: 28 abr. 2010.

Recibido: 26-05-2010

Aceptado:10-07-2010

Folate content and retention in selected raw and processed foods

Bassett, M.N. and Sammán, N.C.

Instituto Superior de Investigaciones Biológicas - Departamento Bioquímica de la Nutrición. Facultad de Bioquímica, Química y Farmacia, Universidad Nacional de Tucumán, Chacabuco, Tucumán, Argentina

SUMMARY. Adequate intake of folate reduced the risk of abnormalities in early embryonic brain development such as the risk of malformations of the embryonic brain/spinal cord, collectively referred to as neural tube defects (NTDs). Folate is extremely sensitive to destruction by heat, oxidation and UV light. The purpose of this study was to evaluate the use of different extraction procedures and enzymatic treatment to determine folate concentrations in variety of foods using a microbiological assay (MA) with *Lactobacillus rhamnosus* as the test organism. This study also aimed to evaluate the retention of folate in foods after using different cooking processes. Nine of the most commonly consumed foods in Argentina and that contain folate were analyzed: broccoli, spinach, potato, lentil, soy (raw and boiled); hen whole egg and yolks (raw, boiled and fried); beef liver (raw and cooked); strawberry (raw) and white bread. For this study, rat plasma (RP) and human plasma (HP) conjugases together with acetate and phosphate buffers were tested. In extraction step for all analyses, RP conjugase was selected since it was easily available in our laboratory and small quantities were required. The acetate buffer was chosen since better growth and more reproducible results were obtained in the different conditions assayed. The results allowed the foods to be grouped into a) rich sources of folate: hen eggs, yolks, spinach, soybean (raw) and strawberry (100 and 350µg/100g fresh weight (FW)); b) good sources of folate: broccoli (raw), soybean (boiled), lentils (raw) and potato (56 to 83µg/100g FW) and c) moderate sources of folate: broccoli, lentils (boiled), white breads, onions and beef liver (15 to 30µg/100g FW). The folate retention was in the range 14–99% according to both type of food and method of processing. Contents and losses of folate vary widely according to type of food and cooking method.

Key words: Folate, folic acid, Microbiological Assay (MA), nutrient retention, Food Composition, LatinFoods.

RESUMEN. Contenido de folatos y retención en determinados alimentos crudos y procesados. La ingesta adecuada de folatos reduce el riesgo de las anomalías en el desarrollo temprano del cerebro embrionario, tales como el riesgo de malformaciones en el cerebro/médula espinal, conocidas en conjunto como defectos del tubo neural (NTDs). Los folatos son extremadamente sensibles al tratamiento con calor, la oxidación y la luz UV. El objetivo de este trabajo fue evaluar el uso de diferentes procedimientos de extracción y de tratamientos enzimáticos para determinar el contenido de folato en distintos alimentos empleando un método microbiológico que utiliza el microorganismo *Lactobacillus rhamnosus*. En este trabajo se evaluó también la retención de folatos en alimentos sometidos a diferentes procesos de cocción. Se analizaron 9 de los alimentos que contienen folatos y más comúnmente consumidos en Argentina: brócoli, espinaca, papa, lenteja, soja (crudos y cocidos); huevo entero de gallina y yema (crudo, hervido y frito). Bife de hígado vacuno (crudo y cocido); frutillas (crudas) y pan: blanco. Se probó para este estudio conjugasas de plasma de rata (PR) y de plasma humano (PH) conjuntamente con buffers fosfato y acetato. En la extracción para todos los análisis se escogió la conjugasa de PR por ser accesible para nuestro laboratorio y por que se utiliza en pequeñas cantidades. El buffer acetato fue elegido debido a que se obtuvo resultados más reproducibles y un mejor crecimiento en las diferentes condiciones ensayadas. Los resultados permitieron agrupar los alimentos en: a) fuente rica de folatos: huevo y su yema, espinaca, soja (cruda) y frutilla (100 a 350µg/100g peso fresco); b) fuente buena de folatos: brócoli (crudo), soja (hervidas), lentejas (cruda) y papa (cruda y hervida) (56 a 83µg/100g peso fresco) y c) fuente moderada de folatos: brócoli y lentejas (hervidos), bife de hígado, pan blanco y cebollas (15 a 30µg/100g peso fresco). La retención de folato estuvo en el rango de 14–99% de acuerdo al tipo de alimento y el método de procesado. El contenido de folato y sus pérdidas fueron muy variables dependiendo del alimento y del método de cocción empleados. **Palabras clave:** Folato, ácido fólico, ensayo microbiológico, retención de nutrientes, composición de alimentos, LatinFoods.

INTRODUCTION

The best sources of folate, considering amount and bioavailability, are liver, fortified breakfast cereals and other grain products, legumes and vegetables (1). The most nutrient-dense sources of folate (µg/kcal) are spinach and other leafy green, romaine lettuce, asparagus, broccoli, orange juice, wheat germ, liver, sunflower seed, cauliflower and cabbage (2).

Folate is a generic term referring to the mono- to polyglutamate derivatives of pteric acid that occur naturally in many foods, and have a closely related biological activity (3). To be absorbed, folate polyglutamates must be broken down (hydrolyzed) to the monoglutamates form in the gastrointestinal tract. Enzymes, folate conjugases, located in the enterocytes accomplish the removal excess of glutamates.

Folate acts as a coenzyme substrate in several single carbon

transfer reactions to synthesize DNA, RNA, proteins and to metabolize amino acids. Various investigations also linked low levels of folate with increases in plasma homocysteine levels, which is an independent risk factor for occlusive vascular diseases and stroke (4). Research in recent years concerning health-protecting roles of folate versus coronary hearts diseases, certain forms of cancer and impaired cognitive functions have resulted in increased recommendations of folate intake in many countries (5-9). Folate has an important role in the prevention of neural tube defects (NTDs) such as spina bifida, anencephaly and anencephalocele (10).

Many aspects of nutrition and the bioavailability of folate are essential to determine the presence of this vitamin in biological materials and in foods. In most nutritional studies, folate consumption is estimated by analyzing food composition databases.

Folate losses during cooking and preparation of foods are the result of a combination of thermal degradation and leaching of vitamin into the cooking water (11).

Potentially suitable techniques for the measurement of folate in foods include microbiological growth methods (MA), HPLC methods, and competitive-binding radio assay procedures (12). MA is the most widely used method and provides a total folate concentration in food. HPLC methods allow the identification of several chemical species of folate. It is applied to mammal tissues and foodstuff with different folate distribution.

Regardless of the method used, MA or HPLC, extraction of folate in the sample matrix and enzymatic deconjugation to transfer polyglutamates to their monoglutamates forms are the key preparative steps. Many problems may occur if conditions for their preparation are not optimized. For example, the folate content in food can be undervalued if extraction is incomplete and also if deconjugation is insufficient (12).

There are not standardized analytical methods for folate content determination to generate major food databases information, both MA and HPLC are commonly used but extraction procedures vary among at different studies.

The purpose of the present study was to evaluate the use of different extraction procedures and enzymatic treatment to determine folate concentrations in variety of foods. This study also aimed to evaluate the retention of folate in foods after foods usual cooking processes, transformation and storage.

MATERIALS AND METHODS

Materials

Foods

Nine of the most commonly consumed foods in Argentina (13) were selected and analyzed: broccoli (*Brassica oleracea*),

spinach (*Spinacia oleracea*), onion (*Allium cepa* L), potato, lentils (*Lens esculenta*), soybeans (*Glycine max*), hen whole egg and yolks, beef liver (commercial, Pampa humeda origin, European race), strawberry (*Fragaria x annanasa*; *Fragaria Camarosa*) and white bread.

Microorganisms

Crioprotected cultures of *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* (ATCC 7469, American Type Culture Collection, Manassas, VA USA) were used in the analytical technique to determine folate content. These cultures were prepared in Centro de Referencia de Lactobacilos CERELA-CONICET, Tucumán, Argentina. These microorganisms were grown on Man, Rogosa y Sharpe medium (MRS) and kept in 15% glycerol at -70° C.

Culture media

Man, Rogosa y Sharpe (MRS) (Laboratorio Britania, Buenos Aires, Argentina)

Bacto Folic Acid Casei (BFACM) (Difco, Sparks, MD, USA). Both prepared per label instruction.

Extraction buffers (0.1M sodium phosphate extraction buffer containing 0.2% ascorbic acid, 0.2% mercaptoethanol pH 6.1. Also, 0.1M sodium acetate extraction buffer containing 1% ascorbic acid pH 4.7-4.8).

Folic acid standard (PGA (pteroylglutamic, Sigma P7876) solution 0.1 g/l was prepared with the dilution buffer (potassium phosphate buffer containing 0.1% ascorbic acid pH 6.1-6.3) and was distributed into small tubes and kept at -20 °C until analysis).

Methods

Food sampling

The studied foods were purchased at a local market in Tucumán, Argentina, except for soy grains which were obtained from Santiago del Estero, Argentina. Andean potatoes were obtained from Jujuy, Argentina. Three samples of each food were taken, following previously established sampling protocol (14), for each type of them. They were individually labeled and transported to the laboratory for conservation. Transfer time never exceeded 60 minutes.

Vegetables, hen whole eggs and liver were stored individually in plastic bags at 4 °C. Legumes (lentils and soy seeds), potato and white breads were also stored in plastic bags at room temperature during the night prior to processing. Strawberries were frozen at -18 °C for two months until analysis.

Processed foods were stored at 4 °C during one day until they were analysed.

Triplicates of each food sample were separately analyzed for moisture content. Sample moisture contents were determined within 24 h of purchase. Moisture was estimated in raw and cooked sample.

Sample preparation, extraction and analytical determination were carried out under the following work conditions: low lighting and without air flow to avoid the folate oxidation.

Strawberries (*Fragaria x annanasa*; *Fragaria Camarosa*)

Fresh strawberries (three samples of ten 200 g trays) were brought from San Isidro de Lules. Variety Camarosa is a firm fruit and with good color and it has a high yield. Frozen strawberries from different trays were randomly taken. The calyces were removed and grinded and sampling by quarter was performed. This process included the following sequence: a pile with strawberries was formed, then divided into four equal parts, two quarters were taken from the extremes and the other parts were thrown away. These samples were mixed and this procedure was repeated until an approximately 500 g sub sample was obtained.

Broccoli (*Brassica oleracea*): 3 kg of each replicate were washed, and damaged leaves and stems were removed. Afterwards, half of the sample of raw broccoli was grinded, mixed and sampling by quarter was performed until a size of approximately 500 g was obtained and was stored until folate analysis.

The other half of raw broccoli was boiled in a covered saucepan (100 ± 2 g in 500 ml water, 10 min total cooking time). Finally water was drained and the boiled broccoli was grinded, mixed and sampling by quarter was performed. The raw and boiled broccoli was stored into a clean recipient.

Spinach (*Spinacia oleracea*): three spinach packs of 1 kg each were washed; the damaged or bruised leaves and stems were removed. Whole leaves were taken randomly, grinded and handled in the same way that raw and boiled broccoli.

Onion (*Allium cepa L*): 2 kg of each replicate were peeled, washed, and the damaged parts were removed. The raw sample is divided into three parts. One part of the sample was grinded, homogenized, mixed, and sampling by quarter was performed until a size of approximately 500 g was obtained.

Another part of fresh onion was boiled in a covered saucepan (100 ± 2 g in 500 ml water, 10 min total cooking time). The water was drained and the sample was grinded, homogenized, mixed, and sampling by quarter was performed until a size of approximately 500 g was obtained. In addition, the three part of raw onion was baked (100 ± 2 g at 180 °C for 15 min total cooking time). The sample was grinded, homogenized, mixed, and sampling by quarter was performed until a size of approximately 500 g was obtained. Finally, raw

and processed onion samples were stored until folate analysis.

Hen egg: each sample, consisting of a dozen eggs was stored at room temperature. Ten hen eggs for the original sample were taken randomly and two groups were formed. The first group was mixed and stored. The second group containing only yolks was separated, homogenized and stored at 4 °C until analysis. Fresh eggs and yolks were boiled in a covered saucepan (4 eggs/yolks in 250 ml water, 10 min total cooking time). Moreover, raw eggs and yolks were fried (2 eggs/yolks in 5ml of sunflower oil for 10 min total cooking time). Finally, raw and processed egg and yolk samples were stored until folate analysis.

Lentils (*Lens esculenta*) and soybeans (*Glycine max*): four 500 g packs of lentils sample were bought at the local market; also four 500 g packs of soybeans were used. 250 g of each sample were randomly taken, mixed and placed into a clean recipient. Dried legume seeds were washed and picked over for removal of waste. One volume of legume in 3 volumes of water was soaked at room temperature for 16 h (100 ± 2 g in 300 ml water), afterwards the water was drained, the seeds raw were grinded and stored until folate analysis.

Another 100 g of soaked legumes were added to 400 ml of boiling water and were boiled during 25 min total cooking time. Finally, the cooked seeds were grinded in Phillips® processor and stored into a clean recipient until analysis. Stainless steel containers kept covered were used during soaking and cooking of legumes to avoid the loss of folate due to light.

Beef Liver (commercial, Pampa humeda origin, European race): four beef livers of 600 g approximately each one sample was grinded, mixed and stored until folate analysis. 100 g of fresh beef liver was roasted in a sheet (100 ± 2 g at 180 °C for 30 min). Finally, raw and processed samples were stored at 4 °C into a clean recipient until folate analysis.

White breads: 3 kg of white bread (french type) samples were grinded, mixed, and sampling by quarter was performed until a size of approximately 750 g was obtained.

Potato (*Solanum tuberosum ssp andigenum, variety desiree*): 2 kg of each potatoes samples were purchased from Cooperativa Agropecuaria y Artesanal Unión Quebrada y Valles (C.A.U. Que. Va.), Jujuy and 500 g were randomly taken and stored at room temperature during the night prior to processing. Potatoes were washed, peeled, grinded (100 ± 2 g) and were boiled 10 min in covered saucepans containing 250 ml of tap water. The water was always boiled in the saucepans prior to the addition of any food samples. Thereafter the water was drained; the samples were cooled and stored until analysis (15,16).

Moisture

The moisture content of foods was determined according to 950.46.B (17).

Folate retention

Folate retention in the products was presented as percent folate remaining in the product after processing and calculated according to the following equations (18, 19) .

$$\text{Weight Yield (WY)} = \frac{\text{Weight of food after cooking in g}}{\text{Weight of food before cooking in g}} \times 100$$

$$\text{Nutrient retention \%} = \frac{\text{Content of folate per 100 g of food after cooking}}{\text{Content of folate per 100 g of food before cooking}} \times \text{WY}$$

Enzymes preparation

Rat plasma conjugase (RP)

One conventional adult male Wistar rat was obtained from Bioterio from Instituto de Química Biológica, Facultad de Bioquímica, Química y Farmacia, UNT. Six ml of arterial blood was collected in 15 ml tubes containing EDTA as anticoagulant and was centrifuged at 5000 rpm 20 min. The plasma supernatant was recovered and stored at -70°C until used.

Human plasma conjugase (HP)

0.25 mg of dried plasma (Sigma P-9523) was dissolved in 1.25 ml of distilled water and 35 μl of mercaptoethanol was added. The suspension was homogenized at room temperature for 1.5 h. After the centrifugation at 10000 rpm for 1 min, the supernatant was collected and fractioned into small tubes of 1.5 - 2 ml. These solutions were used immediately.

Other enzymes used were protease (Sigma, catalogue No. P5380) and α -amylase from *Aspergillus oryzae* (EC 3.2.1.1, Sigma, catalogue No. A0273).

Extraction

The edible portion grinded from the three replicate collection of each raw and processed food sample was used. Ten g of food sample was weighed in an analytical balance with 0.001 g of accuracy and 20 ml of extraction buffer (1:2 food:buffer) was added. Foods samples were homogenized with an omni mixer homogenizer (Ivan Sorvall Inc. Norwalk Conn USA) at the highest speed during 2 min. Next, 5 g of all homogenized samples and 15 ml of extraction buffer were placed into a small flask and extracted in a boiling water bath for 12 min. Samples were cooled on ice before centrifugation at 10000 rpm (Centrifuge Allegra™ 21R; Beckman Coulter) for 15 min at 4°C . The supernatant was collected and the residue dissolved with 10 ml of extraction buffer and centrifuged at 10000 rpm for 15 min at 4°C . Supernatants from both centrifugations were pooled and made to volume with extraction buffer.

A Flow chart describing the in house sample preparation, including extraction (sodium acetate or phosphate extraction buffer with a final 4.7-4.8 and 6.1 pH respectively), enzyme treatment procedures (using RP or HP conjugase) and folate quantification in different foods is shown in Figure 1.

The trienzyme extraction procedure for liver, potato and bread was applied because this method allows a more complete extraction of folate trapped in carbohydrates or protein matrices in food (20). The extraction of folate in starchy foodstuffs varies widely in the deconjugation step. The α -amylase digestion is a necessary part of the extraction since it decreases viscosity of cereals extracts, improves easy of handling and, generally, improves reproducibility of the assay.

Enzyme treatments

Rat and human plasma conjugase were assayed in order to evaluate the conjugase effect.

Fifty ml of extract raw frozen strawberries was taken and the deconjugation was performed as explained below:

(1) 6 ml of extraction buffer and 500 μl of rat plasma conjugase were added to 0.6 ml of supernatants.

(2) 6 ml of extraction buffer and 0.26 ml of human plasma conjugase were added to 0.6 ml of supernatants.

These mixtures (1) and (2) were incubated at 37°C 2 h and the enzymatic reaction stopped by boiling for 5 min. The samples were cooling on ice and centrifuged at 4500 rpm 10 min (Centrifuge Rolco® Model 2936). Finally supernatants from centrifugation were collected and portioned into 1-1.5 ml and stored at -70°C until folate assay.

Folate determination

The total folate content of deconjugated samples was determined by microbiological assay 960.46 (17) using *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* (ATCC 7469) as the test microorganism (21, 22).

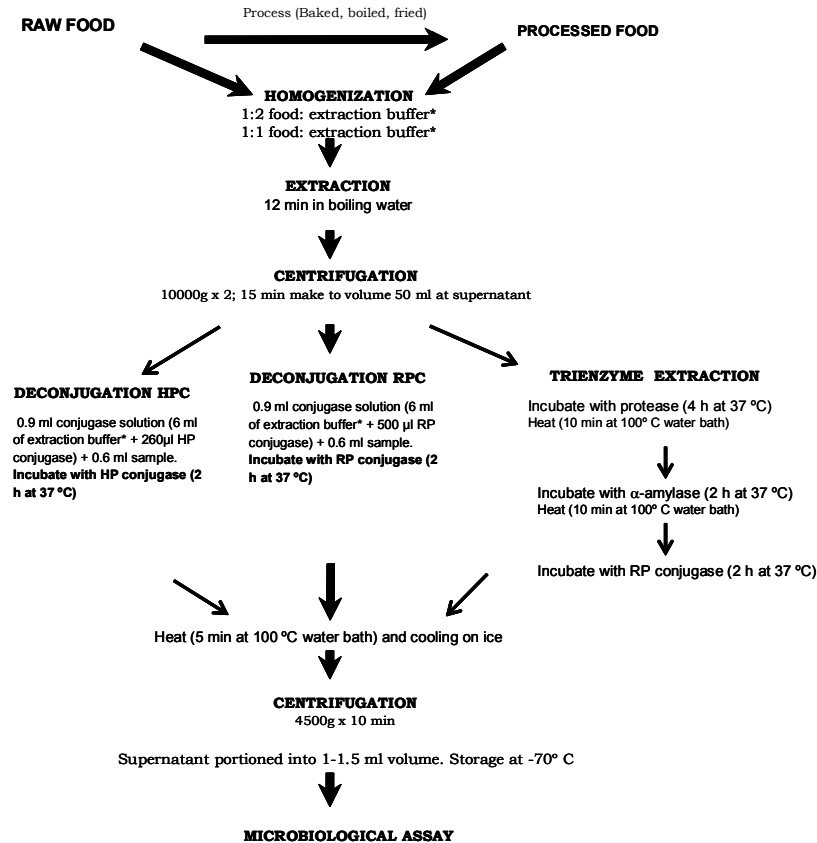
In the microbiological assay, samples suspended in phosphate or acetate buffer were heated to enable extraction of folate. The *Lactobacillus rhamnosus* was inoculated into a medium containing all the growth factors needed except for folate. The growth of *Lactobacillus rhamnosus* increased with increasing folate concentrations in the medium and was followed turbidimetrically. Both the growth response with food analysed and standard folic acid in the medium were compared (17).

The cutoff points used to classify sources were estimated taking into account the recommendation of daily value (RDV) of 400 mcg of folic acid.

Value of folic acid per food $> 25\%$ RDV is a rich source of folate. Value of folic acid per food between 15-25% RDV is a good source of folate. Value of folic acid per food between 5-15% RDV is a moderate source of folate.

Bibliography values were compared with folic acid content in the food and the method used.

FIGURE 1
General flow chart of folate extraction: including preparation, extraction and enzyme treatment procedures prior to folate quantification in different foods



* Extraction buffer = sodium acetate buffer or sodium phosphate buffer

Statistical analysis

The results are presented as mean values from triplicates \pm standard deviation (SD) based on fresh weight (FW). SPSS version 15 (SPSS Inc, Chicago) was used to compared optimum enzyme pH and conjugase plasma. Treatment comparisons of means were made with the use of ANOVA one-way test. Differences were considered significant at $p < 0.05$.

RESULTS

Results about total folate content of strawberry, determined with RP and HP conjugases, and with two different buffers (phosphate and acetate) are reported in Table 1.

Table 2 summarizes results of the present study and information of bibliography published by different authors. All of the analyses were obtained by MA and HPLC methods.

The results obtained for total folate content was markedly higher in spinach than the bibliography data and values for strawberries were similar to those informed previously (23).

Among all foods assayed, the values obtained for eggs yolk contains the majority of folate content, and show a similar behavior to that seen while analyzing whole eggs.

TABLE 1
Total folate content in strawberry determined in different conditions

Variables	Total folate content ($\mu\text{g}/100 \text{ g FW}$)	
	N	Experimental MA (*)
RPC acetate buffer	3	184 ± 8^a
HPC acetate buffer	3	129 ± 21^a
RPC phosphate buffer	3	199 ± 49^a
HPC phosphate buffer	3	79 ± 7^b

*Mean \pm SD, RPC rat plasma conjugase; HPC human plasma conjugase; MA microbiological assay. ^(a,b) Different letters between the rows in each column mean statistically significant differences between strawberries samples ($p < 0.05$).

TABLE 2
Total folate content in raw and processed foods. Total folates retention

Raw and processed food	Moisture (g/100g FW)	Experimental		Bibliography				
		MA(*)	Retention folate (%)	Total folate content [$\mu\text{g} / 100 \text{ g FW}$]				
				HPLC(31)	HPLC(24)	MA(23)	HPLC(30)	HPLC(25)
Folate (%)								
Broccoli	86.9 \pm 0.4	56 \pm 3		111			72	
Boiled broccoli	93.8 \pm 4.9	25 \pm 1	47		65 \pm 24		56	65
Spinach	90.3 \pm 0.3	251 \pm 2		145	100	176 \pm 113	193	128
Boiled spinach	94.2 \pm 0.7	152 \pm 2	64		83 \pm 6		146	
Onion	92.1 \pm 0.1	17 \pm 0		7 \pm 1.10	10 \pm 0	14 \pm 4	19	
Boiled onion	95.6 \pm 0.1	16 \pm 0	90		9 \pm 1		15	
Baked onion	90.9 \pm 0.5	12 \pm 1	63				11	
Liver	69.0 \pm 1.7	198 \pm 21		240 \pm 0			260	428
Roasted liver	49.7 \pm 0.9	30 \pm 3	14	20	106 \pm 2			72.9
Whole hen egg	77.6 \pm 4.1	190 \pm 5		67	47	36 \pm 9	48	43
Fried hen egg	68.4 \pm 2.5	135 \pm 3	69		33 \pm 2		50	
Boiled hen egg	86.3 \pm 0.7	188 \pm 13	98	184	42 \pm 2		44	
Yolk	52.8 \pm 2.9	354 \pm 1		160 \pm 1			145	
Fried yolk	40.9 \pm 1.7	338 \pm 4	94					
Boiled yolk	61.5 \pm 1.1	332 \pm 7	97	213				
Lentil	52.9 \pm 0.1	83 \pm 2		84	20	170 \pm 10		
Boiled lentil	68.6 \pm 1.3	25 \pm 0	43		16		181	
Soybean	60.2 \pm 1.4	101 \pm 1		240 \pm 10		176 \pm 31	111	
Boiled soybean	63.7 \pm 0.6	77 \pm 0	95		15	13 \pm 1	54	
White Bread	20.5 \pm 3.1	24 \pm 1		15	25	14 \pm 5	50	
Raw potato	81.9 \pm 0.1	76 \pm 9		20		14 \pm 2		
Boiled potato	83.3 \pm 0.2	57 \pm 5	74		9 \pm 2		9	

* All folates results are means of triplicate \pm Standard deviation (n=3) based on: fresh weight (FW). Moisture determination in triplicates according to AOAC method. MA: microbiological assay; HPLC: high performance liquid chromatography.

The raw, boiled, and baked onions showed a average folate content varied from 12 and 16 $\mu\text{g} / 100 \text{ g FW}$, and these were included into values range informed in literature.

In different food composition tables and papers consulted, data for folate content of many foods were not available. The total folate content in bread is similar to that reported by Konnings, Roomans and others (24) and it is lower than that presented by Gebhardt (30). Broccoli and roasted beef liver presented the lowest concentrations of folate in this study.

The table 2 shown folate retention in some processed foods.

The steaming and boiling of onions, soybeans, eggs and yolks resulted in folate retention of 90, 96, 98 and 97%, respectively. These values are higher than those informed by other authors (23, 25, 26). Folate retention in broccoli and spinach were of 47 and 64% respectively and these results are in good agreement with those of LešKová and others (11) and McKillop (27).

The folate retention of 14% in a roasted beef liver was the lowest found.

DISCUSSION

The total folate content was similar with both conjugase and acetate buffer (pH 4). The effect was significant different ($p < 0.05$) only in strawberry deconjugated with human plasma and phosphate buffer. In addition, the total folate value obtained by deconjugation with rat plasma at different pH was higher than human plasma.

The deconjugation pH could be an important factor for low folate value in foods deconjugated with human plasma compared to rat plasma. Rat plasma was preferred in this study over other established sources of conjugase (chicken pancreas, hog kidney) since it was easily available in our laboratory and small quantities were required. The acetate buffer was chosen since better growth and more reproducible results were obtained in the different conditions assayed.

For the following analysis, RP conjugase and acetate buffer were used. Rat plasma had a higher activity under these conditions, which was also reported previously (28).

Probably the folate variation in broccoli is caused by external factors or by the differences in the location where this vegetable was grown. Lower folate content in beef liver is probably due to the feeding practice and the age at slaughtering.

It is well known that the micronutrient contents highly depend on production conditions of the food (29).

The results showed a great variability of folate contents in all foods assayed with regard to the published ones by different authors (Table 2). These may be due to analytical methods, extraction procedure, antioxidant used, conjugase sources, deconjugation procedure and pH of assay. The values obtained with microbiological assay method after RPC in the US and Korea are comparable to the present study results (23,30).

Losses in the cooking and soaking waters were considerable and indicated that the leaching was the predominant reason for loss of folates.

A very wide range of folate content overall differences in the retentions in the foods studied depend on both the type of food and the processing method that were used.

CONCLUSION

There was a significant difference in folate content of strawberry samples deconjugated with human plasma and phosphate buffer and there was not a significant difference in samples deconjugated with both plasma conjugase and two different buffers.

The following foods were found to be rich sources of folate: spinach (raw and boiled); strawberry, and soybean (boiled); eggs and yolk (raw, boiled and fried). Good sources of folate were broccoli (raw), soy (boiled), lentils (raw) and potato. Moderate sources of folate were onions (raw and cooked), lentil and broccoli (boiled); white bread and baked beef liver.

There is a great variability in the folate content for all different foods selected in the present assay in comparison with bibliography data. Therefore, it is suggested that an optimization of the extraction and detection of folate in each food group should be carried out.

The folate retention in various foods items is dependent on both, the food in question and the processing method.

High percentages of folate retention were obtained in boiled foods such as eggs, yolks, onions and soy. Average percentages of folate retention were found in boiled broccoli, lentils and spinach. Also in fried eggs and baked onions.

In roasted beef liver, the lowest folate retention (14%) was observed. Cooking affected mainly folate concentration. According to results reported by others authors, there were also great variations in folate retention.

It is important to emphasize that these new data will contribute to the ARGENFOODS Food Composition Table/DATABASE (ARGENFOODS) and Food Composition Tables

of LATINFOODS.

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank to Florencia Duran and are grateful to PhD Jean Guy Le Blanc. The present study was supported by CIUNT and ANPCyT.

REFERENCES

1. Arcot J, Shrestha A. Folate: methods of analysis Trends. Food Science & Technology. 2005;16:253-66.
2. Gordon M, Kessel M, Wardlaw W. The water-soluble vitamins. Perspectives in Nutrition. 5th ed: McGraw-Hill Ryerson Limited 2002. p. 383-9.
3. Gregory JF, 3rd. Chemical and nutritional aspects of folate research: analytical procedures, methods of folate synthesis, stability, and bioavailability of dietary folates. Adv Food Nutr Res. 1989;33:1-101.
4. Anderson L, Dibbie MV, Turkki PR, Mitchell HS, Rynberben HJ. Vitaminas hidrosolubles. Principios de la Nutrición. Nutrición y Dieta de Cooper. 1992:159-62. .
5. Zhang SM, Hankinson SE, Hunter DJ, Giovannucci EL, Colditz GA, Willett WC. Folate intake and risk of breast cancer characterized by hormone receptor status. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2005 Aug;14:2004-8.
6. Boushey CJ, Beresford AA, Omen GS, Motulsky AG. A quantitative assessment of plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. J Am Med Assoc. 1996;274:1049-57
7. Bailey LB. Folate nutrition in adolescents and adults. In: Picciano MF, Stokstad REL, Gregory III JF, editors. Folic Acid Metabolism in Health and Disease. New York:: Wiley-Liss; 1990. p. 253-76
8. Bailey LB, Moyers S, Gregory JF. Folate. In: Bowman BAR, editor. Conocimientos actuales de nutrición. 8 ed ed. Washington DC: ILSI, OPS. Publicación científica y técnica; 2003. p. 235-51.
9. Zhang SM, Moore SC, Lin J, Cook NR, Manson JE, Lee IM, Buring JE. Folate, vitamin B6, multivitamin supplements, and colorectal cancer risk in women. Am J Epidemiol. 2006 Jan 15;163:108-15.
10. Daly LE, Kirke PN, Molloy A, Weir DG, Scott JM. Folate levels and neural tube defects. Implications for prevention. JAMA. 1995 Dec 6;274:1698-702.
11. LešKová E, Kubiková J, kováčiková E, Košická M, Porubská J, Holcíková K. Vitamin losses: Retention during heat treatment and continual changes expressed by mathematical models. Journal of Food Composition and Analysis 2005;19, pp. 252 - 76.
12. Gregory JF, Engelhard R, Brandary SD, Sartain DB. Adequacy of extraction techniques for Determination of Folate in Foods and Other Biological Materials. Journal of food Composition and Analysis 1990;3: 134-44.
13. Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca. Alimentos Argentinos [cited 2008 Dec] Available from <http://www.alimentosargentinos.gov.ar/>. 2007

14. Holden J, Perry C, Pehrsson P, Greenfield H, and Burlingame B. Manual de muestreo de alimentos. Versión Preliminar. FAO, Roma. 2008.
15. Holden JM, Davis CS. Estrategias para el muestreo: el aseguramiento de valores representativos. Producción y manejo de datos de composición química de alimentos en nutrición; 1997. p. 115-35.
16. Vinagre J. Diseño de protocolo de muestreo. Producción y manejo de datos de composición química de alimentos en nutrición; 1997. p. 107-14.
17. AOAC. Microbiological Methods 45.2.01. Vitamins and Other Nutrients. In: Cunniff P, editor. Official Methods of Analysis of AOAC International. 16ava ed. Virgin: USA: AOAC International; 1995. p. 41-5.
18. Bognár A, Piekarski J. Guidelines for Recipe Information and Calculation of Nutrient Composition of Prepared Foods (dishes). Food Composition and Analysis. 2000;13:391-410.
19. Murphy EW, Criner PE, Gray BC. Comparisons of methods for calculating retention of nutrients in cooked foods. J Agric Food Chem. 1975 Nov-Dec;23:1153-7.
20. Hyun TH, Tamura T. Trienzyme extraction in combination with microbiologic assay in food folate analysis: an updated review. Exp Biol Med (Maywood). 2005 Jul;230:444-54.
21. Horne DW, Patterson D. Lactobacillus casei microbiological assay of folic acid derivatives in 96-well microtiter plates. Clin Chem. 1988 Nov;34:2357-9.
22. Sybesma W, Burgess C, Starrenburg M, van Sinderen D, Hugenholtz J. Multivitamin production in Lactococcus lactis using metabolic engineering. Metab Eng. 2004 Apr;6:109-15.
23. Yong M, Hyun TH. Folate content of foods commonly consumed in Korea measured after trienzyme extraction. Nutrition Research 2003;23:735-46
24. Konnings EJM, Roomans HHS, Doran E, Goldbohm RA, Saris WHM, Van der Brandt PA. Folate intake of the Dutch population according to newly established liquid chromatography data for foods. Am J Clin Nutr 2001;73:765-76.
25. Subar AF, Block G, James LD. Folate intake and food sources in the US population. Am J Clin Nutr. 1989 Sep;50:508-16.
26. Ginting E, Arcot J. High-performance liquid chromatographic determination of naturally occurring folates during temper preparation. J Agric Food Chem. 2004 Dec 29;52:7752-8.
27. McKillop DJ, Pentieva K, Daly D, McPartlin JM, Hughes J, Strain JJ, Scott JM, McNulty H. The effect of different cooking methods on folate retention in various foods that are amongst the major contributors to folate intake in the UK diet. Br J Nutr. 2002 Dec;88:681-8.
28. Vahteristo LT, Ollilainen V, Varo P. Liquid chromatographic determination of folate monoglutamates in fish, meat, egg, and dairy products consumed in Finland. J AOAC Int. 1997 Mar-Apr;80:373-8.
29. Pennington JA. Intakes of minerals from diets and foods: is there a need for concern? J Nutr. 1996 Sep;126:2304S-8S.
30. Gebhardt SE, et al. . Usda national nutrient database for standard reference, release 19. [cited 2008 Nov 21] Available from: www.ars.usda.gov/nutrientdata 2006
31. Souci S, Fachman W, Kraut H. Food Composition and Nutrition Tables (FCNT). 6th ed. Stuttgart, Alemania: Medpharm Scientific 2000.

Recibido: 17-03-2010

Aceptado: 15-09-2010

Composición en ácidos grasos de alimentos de alto consumo por la población escolar de la región Metropolitana de Chile, incluyendo contenido en ácidos grasos trans

Zamorano M., Llanquin P., Montealegre R.

Departamento de Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Facultad Tecnológica, Universidad de Santiago de Chile. Chile

RESUMEN. La población escolar chilena ha mostrado un notable cambio en sus hábitos alimentarios, incorporando a su dieta alimentos con alto aporte de grasa que podrían explicar los altos índices de obesidad que hoy se tienen. Gran parte de estos alimentos utilizan grasas industrializadas con alto contenido en ácidos grasos saturados (AGS) y que potencialmente podrían contener ácidos grasos trans (AGT) provenientes de la hidrogenación parcial de aceites o contenidos en forma natural en materias grasas de animales rumiantes. El objetivo de esta investigación fue determinar el perfil de ácidos grasos, incluyendo los AGT, de aquellos alimentos de mayor consumo por la población escolar de la Región Metropolitana de Chile. Se aplicó una encuesta alimentaria a 203 escolares de la Región Metropolitana de Chile, con preguntas de frecuencia y preferencia de consumo de diferentes tipos de alimentos. De acuerdo a esta encuesta se seleccionaron diez tipos de alimentos diferentes a los que se les determinó el contenido de grasa y su perfil en ácidos grasos, incluyendo AGT, medidos por Cromatografía Gas Líquido, según Norma UNE 5509. Se realizó tres muestreos, se trabajó con muestras compuestas por cinco envases individuales y los análisis se realizaron en duplicado. Se encontró que gran parte de los alimentos analizados presentaron bajos contenidos de AGT (<1%), sin embargo algunos de ellos presentaron un notable aporte de AGS, lo que hace que ellos tengan una baja relación AGPI/AGS y por ende baja calidad nutricional de su grasa. La escasa presencia de AGT encontrados en los alimentos analizados es posible debido a la disminución en el uso de materias grasas hidrogenadas, fruto de las recomendaciones de la OPS/OMS que están siendo acogidas en nuestro país.

Palabras clave: Perfil en ácidos grasos, ácidos grasos trans, alimentos, escolares.

INTRODUCCION

La población chilena, al igual que la de muchos países latinoamericanos, ha sufrido cambios en sus hábitos alimentarios incorporando en su dieta alimentos industrializados y de alto aporte calórico. Los escolares no se han visto ajenos a estos cambios, mostrando también nuevos

SUMMARY. Fatty acid profile of high consumption foods by school population of the region Metropolitan of Chile, including trans fatty acid content. The Chilean school population has shown remarkable changes in their eating habits, incorporating high fat content foods to their diet, which could explain the current high obesity rates. A great proportion of these foods uses industrial fats with high content of saturated fatty acids (SFA) and potentially contains trans fatty acids (TFA) as a result of partial oil hydrogenation or as a natural form in ruminant animals fat. The purpose of this investigation was to determine fatty acid profile, including trans fatty acids, from food consumed by the Metropolitan Region school population. A food consumption survey was applied to 203 Metropolitan Region of Chile school-children, which consisted of questions about food consumption frequency and consumer preferences. Based on the results, ten types of food products were selected. Fat content, fatty acids profile, including trans fatty acid, were determined by GLC according to the UNE 5509 Norm. Each analysis was carried out in duplicate and three samplings were performed. It was found that a great percentage of the analyzed foods showed low TFA content (<1%). However, some of them presented remarkable saturated fatty acids content, generating a PUFA/SFA ratio with poor fat nutritional quality. The low TFA concentration found in the food may be explained by a decrease in the use of hydrogenated fats, following PAHO/WHO recommendation, which are being applied in Chile.

Key words: Fatty acids profile, trans fatty acids, food, school children.

hábitos alimentarios lo que los ha llevado a aumentar sus índices de obesidad por la incorporación de alimentos hipercalóricos y con alto contenido de grasa (1). Gran parte de estos alimentos utilizan materias grasas industrializadas las que se usan en una amplia gama de productos, como son snack, galletas, dulces, barras de cereales y otros. Estas grasas sólidas o semisólidas provienen de mezclas de grasas animales, altamente saturadas, con aceites marinos o vegetales endurecidos por hidrogenación parcial (4).

Hoy en día, es sabido que los ácidos grasos saturados, tales como el ácido mirístico (C14:0) y el palmítico (C16:0),

Investigación realizada con financiamiento de DICYT de la VRID de la USACH.

presentes en grasa de origen animal elevan en forma importante el nivel de colesterol sérico y los niveles de colesterol en las lipoproteínas de baja densidad, las cuales son aterogénicas. Por otro lado, los aceites vegetales, ricos en ácidos grasos poliinsaturados (AGPI), especialmente de la familia omega-3, han mostrado que disminuyen el colesterol total y colesterol-LDL (16). Debido a esto la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y Alimentación (FAO) y la Organización Mundial de la Salud (OMS) (17) recomiendan que la ingesta de ácidos grasos saturados (AGS) no exceda el 10% de la energía total, con una ingestión conveniente de ácido linoleico (C18:2 ω 6) entre el 4% y el 10%. Dado que la ingesta total de grasa recomendada es de 30% de la energía total, los ácidos grasos monoinsaturados (AGM) deben proveer la diferencia entre los AGPI y los AGS, esto es una relación 1:1:1 entre AGS, AGM y AGPI. Además, la relación de AGPI omega-6 y de AGPI omega-3 debería estar en el rango de 5:1 a 10:1 como máximo (16,17).

Sin embargo, también es importante considerar que en el proceso de hidrogenación se producen isómeros posicionales trans de los ácidos grasos que producen una pérdida funcional de los ácidos grasos esenciales compitiendo con estos e inhibiendo la actividad de la Δ -6-desaturasa. Además, provocando una alteración del metabolismo de estos ácidos grasos que induce a cambios en la composición de fosfolípidos de la arteria aorta, lo cual es un factor de riesgo para el desarrollo de enfermedades cardiovasculares (4). Por otra parte, en adultos la ingestión de ácidos grasos trans (AGT) incrementa las lipoproteínas de baja densidad (LDL) en un grado similar a los AGS, pero además reduce las lipoproteínas de alta densidad (HDL), lo que hace considerar a los AGT más aterogénicos que los AGS (2, 3,4). En niños se ha reportado que un consumo de AGT tiene consecuencias negativas en el crecimiento y desarrollo, producido por la alteración en el metabolismo de los ácidos grasos, en especial por su efecto en las membranas y la reducción de la absorción de ácidos grasos esenciales (5). En los últimos años y debido a la presencia significativa de AGT en alimentos, se ha observado una preocupación por la comunidad científica y profesionales de la salud, lo que ha llevado a crear estrategias internacionales que promuevan la disminución de los AGT en alimentos. Una de estas es la de "América Libre de Grasas Trans" implementado por la Organización Panamericana de la Salud (OPS) y OMS, en la cual se recomienda que el consumo de AGT no supere el 1% del aporte energético alimentario diario, lo que significa alrededor de 2,4g/día. Valenzuela A. (7) reporta un consumo promedio en Estados Unidos de 7 a 8 g/día, para Alemania de 3,4 g/día para las mujeres y 4,1 g/día para los hombres, en Escocia de 7 g/día y España muestra un valor menor de 2,4 g/día. En el caso de Latinoamérica, la información es mínima, ya que no existe una evaluación normalizada del consumo de AGT, sin embargo, se estima que Argentina tiene un

consumo de 7,2 g/d; Chile de 4,5 g/d y Costa Rica de 2,6 g/d. Además esta estrategia sugiere que los AGT de producción industrial deberían sustituirse en los alimentos procesados y que su presencia no debiera ser mayor a 2% del total de grasas en aceites y margarinas; y no mayor al 5% del total de grasas en alimentos procesados (8). Lo anterior conlleva a realizar estudios y monitoreos del contenido de ácidos grasos en los alimentos, su ingesta y de marcadores biológicos de AGT en la población. Esto permitirá conocer la situación actual y también evaluar cambios tras la adopción de las medidas propuestas.

Por los antecedentes ya señalados, el presente trabajo se planteo como objetivo el conocer el perfil de ácidos grasos de aquellos alimentos de mayor consumo por la población escolar de la Región Metropolitana de Chile y evaluar su contenido en AGT, a manera de confrontar si ha existido algún cambio en los últimos años, debido a la introducción de las estrategias de OPS/OMS.

MATERIALES Y METODOS

Encuesta: Se aplicó una encuesta alimentaria a la población estudiada con el fin de saber la preferencia y el consumo de alimentos con potencial presencia de grasas trans. Esta encuesta fue realizada a una muestra representativa de 203 escolares Chilenos. Para definir la muestra y con la finalidad de encontrar grupos heterogéneos y diversidad en los estratos socioeconómicos, se tomó 12 comunas pertenecientes a la Región Metropolitana de Chile, estas fueron: Conchalí, Recoleta, Quilicura, Estación Central, Santiago, Las Condes, La Florida, Colina, Puente Alto, Buín, Melipilla y Talagante. Luego con el propósito de ampliar la diversidad en el estudio se realizó una elección aleatoria de establecimientos de educación, se aplicó tabla de números al azar para la selección de los locales y para el número de alumnos a encuestar. Se encuestó a un número variable de alumnos de primero a octavo básico por escuela, los datos fueron tomados por encuestadores capacitados mediante entrevista directa con un cuestionario estructurado que contenía siete preguntas sobre tendencia de consumo cuantificada para evaluar frecuencia y preferencia. Además a los encuestados, se les preguntó sobre las marcas comerciales y tipos particulares de productos que tenían mayor preferencia.

Materiales: Los datos obtenidos permitieron la selección de 3 tipos de alimentos diferentes (snack, chocolates, galletas) y las marcas comerciales que mostraron mayor preferencia. Se procedió a un muestreo aleatorio y para cada producto seleccionado se obtuvieron muestras de distintas cadenas de supermercados, minimarket y quioscos, de diferentes zonas de la Región Metropolitana. Por producto se adquirieron 5 envases individuales para formar una muestra compuesta

y se realizaron tres muestreos en aproximadamente 3 meses.

De acuerdo al tipo de alimentos se dividieron en 3 grupos, el primero correspondiente a diferentes clases de galletas, con y sin relleno, con y sin coberturas, abarcando cinco tipos de diferentes marcas comerciales, en un segundo grupo están dos tipos diferentes de chocolates, uno relleno y otro tipo bombón. Por último, están los snacks salados, entre los que destaca los chips de papas fritas, chips de maíz y ramitas (palitos de harina salados). Todos los alimentos seleccionados, fueron escogidos en base a las marcas comerciales de mayor predilección que mostró la encuesta aplicada a los escolares.

Las muestras obtenidas fueron trasladadas al Laboratorio de Análisis Químico de Alimentos de la Facultad Tecnológica de la Universidad de Santiago de Chile (USACH), en sus envases originales, donde se registro el nombre, origen, fecha y peso y se les consigno un número para su identificación. En el laboratorio las muestras fueron homogenizadas en un procesador de alimento (Moulinex, modelo D56), posteriormente cada una se dividió en dos porciones que se guardaron en bolsas herméticas en refrigeración entre 3 a 5°C. Una de las muestras guardadas se conservó como contra muestra y la otra para la determinación de materia grasa y perfil de ácidos grasos, análisis que se realizaron en duplicado.

Determinación de lípidos totales y composición en ácidos grasos

Para la extracción de grasa se utilizó una mezcla de cloroformo y metanol (2:1 v/v) según Bligh y Dyer (12).

La composición en ácidos grasos se determinó por cromatografía gas-liquido previa preparación de los esteres metílicos según Norma española, UNE-EN ISO 5509 (11), con utilización de NaOH 0,5M para la saponificación, isooctano como solvente y Trifluoruro de Boro en Metanol como agente esterificante. Se empleó un Cromatógrafo gaseoso Perkin Elmer con columna BPX 70 (SGE) de 60 m de largo y 0,25 mm de diámetro interno, detector de ionización de llama y Helio como gas portador. Los parámetros de operación fueron los siguientes: Temperatura inyector 250°C en split, temperatura detector 250°C, temperatura columna 150°C por 5 minutos hasta 198°C por 20 minutos, con un aumento a 5°C por minuto, luego una segunda rampa de temperatura de 4°C por minuto hasta 220°C por un tiempo final de 10 minutos. Flujo gas portador de 1 ml por minuto y volumen de inyección 0,5 µl.

Para la identificación de los ácidos grasos se empleó una mezcla de estándares de ácidos grasos, marca NuCheck Prep. Inc., y se compararon los tiempos de retención de los ácidos grasos de los patrones con los de las muestras. De esta forma se obtuvo el Perfil porcentual de los ácidos grasos, expresados como porcentajes de esteres metílicos (10).

RESULTADOS

La encuesta realizada demostró que del total de escolares encuestados, el 99% consume en una frecuencia de más de dos veces por semana, alguna clase de alimento con potencial presencia de AGT. En cuanto al tipo de alimento que presentó mayor predilección, como lo muestra la Figura 1, fue papas fritas tipo "chips" con 28,8% de las preferencias, seguidos por los chocolates, galletas, chips de Maíz y ramitas. La frecuencia de consumo mostró que el 64% de los encuestados come estos alimentos al menos dos o tres veces a la semana. La Tabla 1 presenta los tipos de productos que se seleccionaron para analizar y en la Tabla 2 y 3 se puede observar el contenido de grasa y el perfil en ácidos grasos de todos los alimentos estudiados. Todos los tipos de galletas analizados presentan altos contenidos de grasa con valores entre 27,4% y 46,7%. El perfil de la grasa de estos alimentos muestra contenidos de AGS por sobre 48% y por ende aportes intermedios de AGM, de 16% a 36% y AGPI entre 8% y 23%. La galleta de chocolate (rellena) presenta el mayor contenido de ácido linoleico (C18:2 ω 6) de 20,91%, además del valor mas alto en la relación AGPI/AGS de 0,46. En cuanto a los AGT, todas las galletas analizadas muestran contenidos totales menores a un 1% y en cuanto al tipo de de ácidos graso trans, el ácido elaidico, (C18:1 t) mostró el valor mas alto, cercano al 0,4%. Al sumar los AGS con los AGT, todas las galletas mostraron valores por sobre 50%, incluso dos de ellas con un aporte de estos ácidos grasos de 70%. En la encuesta aplicada a los escolares, un 25% de ellos mostraron para los diferentes tipos de galletas una frecuencia de consumo entre uno a tres veces a la semana.

FIGURA 1
Preferencia (%) de alimentos con potencial contenido de AGT consumidos por los escolares de la Región Metropolitana de Chile

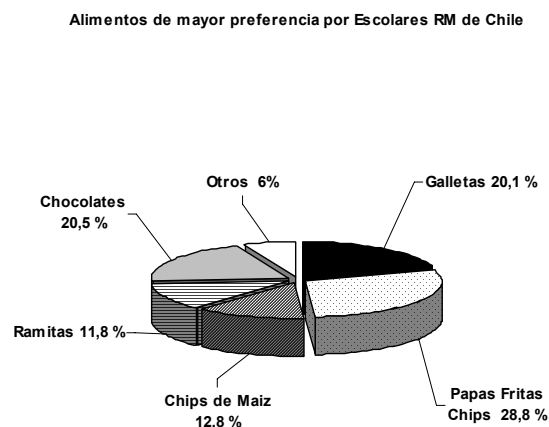


Tabla 1
 Descripción de alimentos de mayor preferencia en 203 escolares por marcas. Región Metropolitana de Chile
 Año 2008

Alimento (preferencias por marcas)	Marca A	Marca B	Marca C
1- Galletas Rellenas	(A,1) Galleta sabor chocolate y relleno sabor chocolate	(B,1) Galleta sabor chocolate y relleno sabor vainillas de chocolate	(C,1) Oblea rectangular, rellena de abor vainilla y cubierta
2-Galletas con cobertura de chocolate	(A,2) Galletitas con cobertura de chocolate en formato "mini"	(B,2) Galleta con cobertura de chocolate y relleno sabor vainilla	—
3-Chocolates y Golosinas	(A,3) Chocolate relleno de pasta de almendra	(B,3) Bombón relleno de pasta de maní y cubierta de chocolate	—
4-Snacks	(A,4) Chips de papas fritas Corte Liso	(B,4) Chips con forma de palitos horneados (Ramitas)	(C,4) Chips de Maíz

Tabla 2
 Perfil en ácidos grasos de cinco alimentos los cuales indican el porcentaje de grasa.
 Se expresa en porcentaje de esteres metílicos. ^a

	Galleta (A,1)	Galleta (B,1)	Oblea (C,1)	Galletita (A,2)	Galleta (B,2)
% de Grasa	27,40%	27,40%	22,06%	46,70%	32,80%
C 8:0	0,92±0,11	0,69±0,24	1,30±0,18	0,62±0,01	1,40±0,01
C 10:0	0,79±0,06	0,89±0,09	1,50±0,3	1,07±0,04	2,21±0,16
C12:0	8,32±0,35	1,37±0,01	25,03±0,62	11,95±1,39	17,97±3,25
C14:0	3,66±0,23	2,44±0,01	12,61±0,52	9,54±0,08	14,63±0,72
C16:0	22,12±2,49	34,96±4,20	19,51±1,16	23,79±0,19	22,93±0,79
C16:1ω7	0,1±0,08	0,08±0,01	1,05±0,5	0,15±0,01	0,10±0,04
C17:0	0,07±0,09	0,03±0,01	0,1±0,05	0,1±0,01	0,06±0,03
C18:0	13,44±1,49	8,27±0,55	7,65±0,30	9,16±1,80	9,52±1,36
C18:1ω9	26,18±0,62	36,79±1,89	15,9±0,5	28,98±1,10	21,29±2,11
C 18:1ω9trans	0,32±0,04	0,32±0,02	0,48±0,1	0,58±0,02	0,35±0,03
C18:2ω6	20,91±0,18	14,34±0,79	5,58±0,32	12,43±0,45	8,54±0,86
C18:2ω6 trans total	0,06±0,01	0,06±0,01	0,3±0,09	0,24±0,08	0,43±0,05
C18:3ω3	2,10±0,17	0,27±0,09	0,1±0,02	0,39±0,03	0,27±0,2
C 18:3ω3 trans total	0,03±0,01	0,09±0,01	0,1±0,04	0,14±0,05	0,21±0,09
C20:0	0,23±0,03	0,03±0,01	0,1±0,07	0,44±0,06	0,1±0,01
C20:1ω9	nd	nd	nd	nd	nd
C22:0	0,1±0,02	0,1±0,02	nd	0,13±0,01	nd
C22:1ω9	nd	nd	nd	nd	nd
AGS	49,58±0,06	48,78±0,06	69,48±0,05	56,8±0,05	68,82±0,1
AGM	26,28±0,17	36,87±0,48	16,95±0,5	29,13±0,3	21,39±0,6
AGPI	23,01±0,09	14,61±0,22	5,68±0,09	12,82±0,12	8,81±0,5
AGT	0,41±0,01	0,47±0,01	0,88±0,03	0,96±0,03	0,99±0,02
AGS+AGT	49,99	49,25	70,36	57,76	69,81
AGPI/AGS	0,46	0,29	0,08	0,22	0,12
ω6/ω3	9,95	53,1	55,8	31,87	31,62

^a Cada valor es el promedio de n ± D.S, n=3 muestra compuesta = 5 , análisis en duplicado nd=no detectado.

TABLA 3
 Perfil en ácidos grasos de cinco alimentos los cuales indican el porcentaje de grasa.
 Se expresa en porcentaje de esterios metílicos. a

	Bombón (B,3) 23,93%	Chocolate (A,3) 48,90%	Chips papas (A,4) 27,97%	Chips palitos (B,4) 22,30%	Chips maíz (C,4) 22,70%
C 8:0	0,84±0,20	2,35±0,28	nd	nd	nd
C 10:0	1,40±0,26	3,74±0,15	nd	nd	nd
C12:0	22,58±4,58	18,51±0,81	nd	0,04±0,02	0,1±0,03
C14:0	12,34±1,16	16,34±0,41	nd	0,14±0,02	0,4 ± 0,07
C16:0	24,92±1,61	15,40±0,17	7,68±0,98	8,23±0,34	9,6 ± 0,5
C16:1ω7	0,17±0,06	0,13±0,01	0,17±0,01	0,16±0,03	0,5±0,02
C17:0	0,08±0,01	0,1±0,08	0,08±0,11	0,05±0,06	0,1±0,02
C18:0	9,31±0,58	14,22±0,57	4,61±0,56	5,02±0,1	4,3 ± 1,1
C18:1ω9	20,80±1,01	10,59±0,45	45,34±0,18	46,18±1,74	61,5 ± 0,4
C 18:1ω9trans	0,12±0,02	0,20±0,09	0,10±0,03	0,3±0,03	0,5±0,05
C18:2ω6	6,23±0,31	14,66±0,31	37,85±0,15	36,85±1,26	20,3 ± 0,6
C18:2ω6 trans total	0,50±0,01	0,20±0,05	0,11±0,03	0,12±0,03	0,3±0,05
C18:3ω3	0,12±0,17	1,52±0,08	1,50±0,23	1,48±0,32	0,9 ± 0,06
C 18:3ω3 trans total	0,10±0,01	0,1±0,01	0,08±0,01	0,12±0,02	0.1±0,01
C20:0	0,14±0,20	0,47±0,04	0,36±0,13	0,46±0,03	0,5 ± 0,08
C20:1ω9	0,1±0,05	0,1±0,01	nd	0,05±0,01	0,2 ± 0,05
C22:0	nd	0,48±0,02	0,92±0,02	0,98±0,04	0,3±0,03
C22:1ω9	nd	nd	nd	nd	nd
AGS	71,61±0,13	71,64±0,03	12,73±0,10	13,94±0,02	15.3±0,1
AGM	21,07±0,2	10,82±0,05	45,51±0,01	46,39±0,3	62,2±0,08
AGPI	6,33±0,07	16,18±0,09	39,35±0,05	38,33±0,4	21,2±0,33
AGT	0,72±0,01	0,5±0,01	0,29±0,01	0,54±0,01	0.1±0,02
AGS+AGT	72,33	72,14	13,02	14,48	15,4
AGPI/AGS	0,08	0,22	3,09	2,74	1.38
ω6/ω3	51,96	9,66	25,23	24,89	22,55

a Cada valor es el promedio de $n \pm$ D.S, $n=3$ muestra compuesta = 5 , análisis en duplicado nd =no detectado.

La Tabla 3 muestra las otras dos clases de alimentos con posible presencia de AGT consumidos por los escolares de la Región Metropolitana, que son los chocolates y los snacks salados. Los dos tipos de chocolates analizados, con porciones de consumo de 15 g para el Chocolate relleno de pasta de almendra y de 32 gr para Bombón relleno de pasta de maní y cubierta de chocolate, mostraron una frecuencia de consumo superior a una vez a la semana en 58% de los encuestados. El aporte de grasa fue diferente en cada uno de ellos, el Bombón tiene un contenido de 23,93% y el chocolate relleno de 48,9%. Sin embargo, ambos alimentos muestran contenidos de AGS muy similares de 71,6 %. Para el contenido de AGPI, el Bombón muestra un valor bajo de 6,33% a diferencia del chocolate que tuvo un 16,18%, con un aporte de ácido linoleico (C18:2ω6) de 6,23% y 14,66%, respectivamente. En cuanto al contenido de AGT, estos al igual que en las galletas, fueron bajos y cercanos a 0,5% para el chocolate y 0,7% para el bombón, en este alimento el ácido linoelaidico (C18:2ω6trans) presento el contenido mayor.

Los diferentes tipos de Snacks analizados presentaron aportes de grasa entre un 22,3% a un 27,97%, el perfil de la grasa mostró un bajo contenido de AGS, con valores entre 12,73% y 15,3%, altos aportes de AGM entre 45,51% y 62,2% y aportes intermedios de AGPI de 21,2% a 39,35%. Destaca en estos alimentos, los chips de papas fritas que presentan un aporte de ácido linoleico y de ácido linoléico de 37,85% y 1,48%, respectivamente. Lo anterior permite observar una razón AGPI/AGS más elevada que todos los alimentos estudiados, ya que por ejemplo en los chips de papas fritas llega a un valor de 3,09. En cuanto a los AGT, estos alimentos presentaron bajos contenidos de este tipo de ácidos grasos con valores menores al 0,6%.

DISCUSION

Al considerar los resultados obtenidos, gran parte de los alimentos estudiados presentaron un alto contenido de grasa, que por ende los hace alimentos hipercalóricos, en especial si

son consumidos por niños. Por otra parte el perfil de la grasa demostró que gran parte de estos alimentos utilizan grasa altamente saturada y con bajos aportes de ácidos grasos poliinsaturados, corroborado con los bajos valores de la relación AGPI/AGS, además al evaluar los tipos de AGPI, se observan valores altos de la familia omega 6, ratificado también con los elevados valores de la relación $\omega 6/\omega 3$, esto indicaría que estos alimentos tiene una grasa de calidad nutricional mala o regular. La excepción en esto lo presenta los alimentos tipo snack estudiados, los cuales presentan un importante aporte de AGPI y por ende relaciones AGPI/AGS cercanas a 4. En cuanto a los AGT, todos los alimentos estudiados presentaron bajos contenidos de ellos, lo que significaría un consumo mucho menor a 4,5 g/día que era el reportado para Chile por Valenzuela (7).

Con esto es posible deducir que la creciente publicidad sobre los efectos desfavorables de ellos parece haber influenciado a los industriales a reducir el uso de materias grasas hidrogenadas o la modificación de este proceso evitando la producción de AGT y por lo tanto la cantidad de estos isómeros en sus productos, lo que nutricionalmente es adecuado, sin embargo, es preocupante el alto contenido de AGS encontrados en estos tipos de alimentos, que sumados a los AGT, en algunos alimentos presentan un aporte muy elevado.

CONCLUSIONES

Los escolares de la Región Metropolitana de Chile mostraron una alta preferencia por alimentos que tienen un elevado contenido de grasa, los que cumplen un rol importante en su dieta. Debido a esto, se recomienda limitar su consumo en esta población ya que una ingesta elevada de ellos por parte de los escolares podría tener un rol importante en los elevados índices de obesidad que tiene esta población.

Los diferentes tipos de galletas y chocolates analizados mostraron en su composición de grasa un alto aporte de AGS, y bajo de AGPI, esto hace que la relación AGPI/AGS sea baja en gran parte de estos alimentos, lo que indica una mala calidad de la grasa de este tipo de productos.

Los snacks analizados presentaron un perfil de ácidos grasos equilibrado, con un mayor aporte de AGPI y por ende una razón AGPI/AGS cercana a 3, lo que mejora la calidad nutricional de su materia grasa.

Se observó una escasa presencia de AGT, lo que indicaría que en la fabricación de estos alimentos se utilizan materias grasas mas bien de origen vegetal con baja hidrogenación o que en este proceso se han realizado modificaciones que han permitido obtener bajos contenidos de AGT. Esto podría ser posiblemente fruto de las recomendaciones de OPS/OMS que están siendo acogidas por los industriales en nuestro país.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el financiamiento de DICYT de la VRID de la USACH.

REFERENCIAS

1. Liberona Z Y et al. Ingesta de Macronutrientes y Prevalencia de Malnutrición por Exceso en Escolares de 5o y 6o Básico de Distinto Nivel Socioeconómico de la Región Metropolitana. Rev. Chil. Nutr. 2008; 35(3):190-199.
2. Griguol Chulich, VI, León-Camacho M y Vicario Romero IM. Contenido En Ácidos Grasos Trans de las Margarinas: Evolución en las Últimas Décadas y Tendencias Actuales. Arch Latinoamer Nutr. 2005;55(4):367-374.
3. Griguol Chulich VI, León-Camacho, M y Vicario Romero IM. Revisión de los niveles de ácidos grasos trans encontrados en distintos tipos de alimentos. Grasas y Aceites, 2007;58(1):87-98.
4. Vasconcellos A, Bressan J, Sabarense CM. Ácidos Graxos Trans: Alimentos e Efeitos na Saúde. Arch Latinoamer Nutr. 2006;56(1):1-17
5. Innis Sheila . Trans fatty intakes during pregnancy, infancy and early childhood. Atheroscler Suppl. 2006;7(2):17-20.
6. Valenzuela B, Alfonso. Ácidos Grasos con Isomería Trans II: Situación de Consumo en Latinoamérica y Alternativas para su sustitución. Rev Chil Nutr. 2008; (35)3:172-180.
7. Organización Panamericana de la Salud. América Libre de Grasas Trans. Boletín de OPS. Washington, D.C: 2007.
8. Association of Official Agricultural Chemist. Official Methods of Analysis of AOAC.16th ed. Washington, D.C. The Association: 1995.
9. Greenfield H, Southgate DAT. Food Composition Data: Production, Management and Use. Edition, FAO Rome: 2003.
10. AENOR. Asociación Española de Normalización. Aceites y grasas de origen animal y vegetal Preparación de esteres metílicos de ácidos grasos UNE-EN ISO 5509. Madrid:2000.
11. Bligh EG, Dyer WJ. A Rapid Method of Total Lipid Extraction and Purification. Can J Biochem Phys.1959;(37):911-917.
12. Peterson G, Aguilar D, Espeche M y col. Ácidos Grasos Trans en Alimentos Consumidos Habitualmente por lo Jóvenes en Argentina. Rev Chil Pediatr. 2006; 177 (1): 92-101.
13. Gagliardi AC, Mancini Filho J, Santos RD. Perfil Nutricional de Alimentos com Alegação de Zero Gordura Trans. Rev Assoc Méd Bras. 2000;5(1):50-53.
14. Baylin A, Siles X, Donovan-Palmer A et al. Fatty Acids composition of Costa Rican Foods including *trans* Fatty acids content. J Food Compos Anal.2007; 20:82-192.
15. Uauy R, Valenzuela A. Use de preferencia Aceites Vegetales y disminuya las grasas de origen animal en Castillo, C., Uauy R. y Atalah E. Editores. Guías de Alimentación para la Población Chilena. 1997:95-99.
16. Food and Agriculture Organization of the United Nations FAO and the World Health Organization WHO. Fats and Oils in Human Nutrition. Report of a Joint Expert Consultation. Rome. 1994.

Recibido: 12-01-2010

Aceptado: 24-09-2010

NOTAS NECROLOGICAS

Benjamín Torún Rymer, 1939 – 2010

Conocí a Benjamín Torún (Benny como todos le decíamos) desde que lo busqué para que asesorara mi tesis de medicina en el INCAP en 1991; seguirle el paso no era sencillo, con largas horas de trabajo, viendo hasta el último detalle, hasta al acompañarlo caminando a gran velocidad por los pasillos, todo momento era importante de aprovechar. Su motivación y apoyo fueron determinantes para que lograra iniciar y completar mi doctorado en Estados Unidos, para luego regresar a trabajar de nuevo a su lado entre 1998 y su retiro en 2001, teniendo el privilegio de intentar continuar con su legado en el INCAP. Su ejemplo, sabiduría, integridad, lealtad y perseverancia fueron decisivos en mi formación, al igual que en la de muchos otros colegas que tuvieron la oportunidad de conocerlo. Mi relación de trabajo y amistad con Benny continuó después de dejar el INCAP, cuando junto con dos amigos, fundó el Centro de Investigación y Docencia en América Latina (CIDAL), donde laboró como director ejecutivo hasta el momento de su trágica muerte. Siempre con tantas ideas y planes, más de los que podía hacer y publicar; pocas semanas antes aún hablábamos de varios proyectos y manuscritos pendientes de hacer. Benny fue un gran profesional, con tremenda dedicación y capacidad de trabajo, compañero y hermano de muchos, en múltiples batallas ganadas durante los 40 años que trabajó en el INCAP. Benny dedicó toda su vida al INCAP, siguiendo los pasos de su maestro Fernando Viteri, quien acostumbraba llamarlo cordialmente como su “hermano menor”.

Benjamín Torún, de nacionalidad guatemalteca, obtuvo el título de Médico y Cirujano de la Universidad de San Carlos de Guatemala en 1965, siendo galardonado como el mejor estudiante de su promoción y con el premio Flores a la mejor tesis. En 1969 terminó una maestría en Fisiología en la Universidad de Harvard, gracias a una beca otorgada por el Fundación Kellogg y en 1972 un doctorado en Bioquímica y Metabolismo Nutricional en el Instituto Tecnológico de Massachussets, para lo cual también obtuvo dos becas, una otorgada por la Universidad de las Naciones Unidas (UNU) y otra por la Agencia de los Estados Unidos para el Desarrollo Internacional (USAID). Sus compañeros lo apodaron “Benny questions” (Benny preguntas), por ser quien, al final de la clase, nunca se quedaba sin hacer más de alguna pregunta. Ese mismo año regresó al INCAP, en donde laboró hasta su retiro obligatorio en 2001, ocupando múltiples posiciones, entre las que destacan Director del Centro Clínico de

Investigación, Jefe de la División de Biomédica, Jefe de la División de Nutrición y Salud y Coordinador de los programas de fisiología, metabolismo y nutrición clínica y nutrición y enfermedades crónicas. Autor y co-autor de 10 libros y monografías y de más de 100 artículos en revistas científicas y capítulos de libros. Fue miembro de múltiples grupos de expertos que produjeron varios reportes y monografías publicadas por OMS, FAO, OPS, UNU, IDECG, INACG y otras organizaciones internacionales. A su vez, fue miembro de varios consejos editoriales de revistas científicas, incluyendo Archivos Latinoamericanos de Nutrición.

Las áreas de la nutrición en las que el Dr. Torún dejó huella fueron: Anemias nutricionales; evaluación de la calidad proteica alimentaria; manejo de la diarrea aguda y crónica; desnutrición proteico energética; requerimientos de proteínas y energía; metas nutricionales y guías alimentaria; uso e interpretación de antropometría; actividad física y nutrición; gasto energético, metabolismo y crecimiento; obesidad y enfermedades crónicas relacionadas a la nutrición; y, ética de la investigación en sujetos humanos. Cabe destacar que las dos contribuciones más sobresalientes del Dr. Torún se relacionan al tratamiento de la desnutrición aguda severa en niños menores de 5 años y a las recomendaciones dietéticas diarias del INCAP.

Su trabajo de cuatro décadas sobre cómo tratar la desnutrición aguda severa en niños menores de 5 años de edad es actualmente un tema de estudio y lectura obligada para los profesionales del área en todo el mundo, así como para los estudiantes de post-grado de varias profesiones, en particular pediatría, enfermería, nutrición, intensivistas, entre otras. El Dr. Torún ha sido uno de los profesionales del INCAP más conocido, citado y respetado en muchísimas salas y hospitales pediátricos de los lugares más pobres del mundo. El Dr. Aaron Lechtig opina que los escritos y enseñanzas del Dr. Torún sobre desnutrición aguda han contribuido a salvar más vidas en todo el mundo que cualquier otro profesional en América Latina y quizá en todo el mundo en esa especialidad. El Dr. Lechtig ha constatado personalmente que los escritos del Dr. Torún y sus indicaciones de tratamiento así como de las precauciones que se deben tomar en los casos de desnutrición aguda para no producir más daño, se han utilizado en toda América Latina, África y el sudeste asiático. Él ha sido testigo presencial de cómo sus contribuciones eran circuladas de mano en mano, estudiadas en pequeños grupos por meses enteros, fotocopiadas hasta donde se acabada la tinta y traducidas a los diferentes dialectos tribales africanos.

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 revisión, editoriales, conferencias y simposia y trabajos científicos originales sobre temas relacionados con alimentación y nutrición, entre ellos, ciencia y tecnología de alimentos, nutrición humana y animal, bioquímica nutricional aplicada, nutrición clínica y comunitaria, educación en nutrición y microbiología de alimentos.

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 para ser publicados y se reserva el derecho de no publicar los originales que no se ajusten a los lineamientos de la revista. No se devolverán originales ni se mantendrá correspondencia sobre aquellos que no sean publicados. ALAN se reserva los derechos de reproducción de los artículos seleccionados.

ALAN se acoge a las normas de los requisitos uniformes del Comité Internacional de Directores de Revistas Médicas (CIDRM), también conocido como el Grupo de Vancouver. A continuación se entrega un resumen de los aspectos más relevantes para la preparación de manuscritos que se presentan a las revistas biomédicas y se añaden algunas recomendaciones específicas para ALAN.

Requisitos para la presentación de manuscritos

Resumen de los requisitos técnicos

- Todas las partes del manuscrito estarán a doble espacio.
- Revise la secuencia: página del título, resumen y palabras clave, texto agradecimientos, referencias, cuadros (cada uno en página aparte), pies e epígrafes de las ilustraciones.
- Las ilustraciones se presentarán en forma de impresiones fotográficas sin tomar, y no deberán exceder de 203 x 254 mm.
- Incluya la autorización para reproducir material publicado con anterioridad o para usar ilustraciones en las que se pueda identificar a los sujetos humanos.
- Adjunte la transferencia de los derechos de autor y otros formularios.
- Presente el número exigido de copias impresas del artículo (ALAN exige original, 3 copias y el diskete correspondiente, en el caso de envío por correo postal).
- Para el envío por correo electrónico consulte las direcciones que aparecen en la primera contraportada de la revista.
- Guarde copias de todo lo que envíe.

Principios generales

El texto de los artículos de observación y experimentales se divide generalmente, aunque no por fuerza, en secciones que llevan estos

encabezamientos: introducción, métodos, resultados y discusión. En los artículos largos puede ser necesario agregar subtítulos dentro de estas secciones, sobre todo en las de resultados y discusión, a fin de hacer más claro el contenido. Es probable que otro tipo de artículos -como los informes de casos, las revisiones y los editoriales- exijan otra estructura. Para mayor orientación, los autores deberán consultar la revista en la que pretenden publicar.

Mecanografíese el manuscrito en papel bond blanco de 216 x 280 mm. Usar doble espacio en todas las palabras del manuscrito -es decir, la portada, el resumen, el texto, los agradecimientos, las referencias, cada cuadro y los pies o epígrafes de las figuras-, así como márgenes amplios, permite que los editores, revisores y correctores corrijan el texto línea por línea y anoten observaciones y preguntas directamente en el original impreso. Si los manuscritos se presentan en formato electrónico, los archivos deben venir a doble espacio. Siempre numere las páginas.

Portada

La portada debe llevar la siguiente información:

1) El título del artículo. Los títulos concisos son más fáciles de leer que los largos y enrevesados. Sin embargo, los títulos demasiado cortos pueden omitir información importante, como el diseño del estudio (que es particularmente importante para identificar los ensayos controlados aleatorizados). Los autores deben incluir en el título toda la información que permita que la recuperación electrónica del artículo sea al mismo tiempo sensible y específica; 2) Los nombres y la afiliación institucional de los autores. Algunas revistas publican el grado académico más alto de cada autor, mientras que otras no lo hacen; 3) El nombre de los departamentos e instituciones a los que debe atribuirse el trabajo; 4) Las cláusulas de descargo de responsabilidad, si las hubiera; 5) Los autores corresponsales. Hay que anotar el nombre, dirección postal, número de teléfono y de fax y dirección de correo electrónico del autor encargado de la correspondencia acerca del manuscrito (el "autor corresponsal"); 6) Nombre y dirección del autor a quien se dirigirán las solicitudes de separatas, o nota informativa de que los autores no las proporcionarán; 7) Procedencia del apoyo recibido en forma de subvenciones, equipo, medicamentos o todos ellos.

Autoría

Para concederle a alguien el crédito de autor, hay que basarse únicamente en su contribución esencial por lo que se refiere a los siguientes aspectos: 1) la concepción y el diseño o bien el análisis y la interpretación de los datos; 2) la redacción del artículo o la revisión crítica de una parte importante de su contenido intelectual; y 3) la aprobación final de la versión que será publicada. Las tres condiciones tendrán que cumplirse siempre. La participación que consiste meramente en conseguir financiamiento o recoger datos no justifica

el crédito de autor. Tampoco basta con ejercer la supervisión general del grupo de investigación. Toda parte del artículo que sea decisiva con respecto a las conclusiones principales deberá ser responsabilidad de por lo menos uno de los autores. Los directores de revistas podrán solicitar a los autores que describan la contribución de cada uno; esa información puede ser publicada.

Resumen y palabras clave

La segunda página incluirá un resumen que no sobrepasará las 250 palabras de extensión. En él indicaran los propósitos del estudio o investigación; los procedimientos básicos (selección de los sujetos o los animales de laboratorio incluidos en el estudio; métodos de observación y análisis); los hallazgos más importantes (proporcionense datos específicos y, de ser posibles, su significación estadística), y las conclusiones principales. Hágase hincapié en los aspectos nuevos e importantes del estudio o las observaciones.

A continuación del resumen agréguese, debidamente rotuladas, de 3 a 10 palabras o frases cortas clave que ayuden a los indizadores a clasificar el artículo, las cuales se publicarán junto con el resumen. ALAN exige que todo trabajo deberá acompañarse de un Resumen en inglés con sus palabras clave, "key words", si el trabajo original fuese en español, portugués o francés. Si el trabajo original es en inglés, el Resumen debe presentarse en español, con el título también en español e igualmente con sus palabras clave. Deberá leerse corrido no en secciones.

Introducción

Proporcione el contexto o los antecedentes del estudio, es decir, la naturaleza del problema y su importancia. Enuncie la finalidad o el objetivo de investigación específico del estudio u observaciones, o bien la hipótesis que se ha puesto a prueba; el objetivo de investigación suele expresarse con más nitidez si se formula como una pregunta. Hay que expresar con claridad los objetivos principales y secundarios y describir todo análisis de subgrupos que haya sido especificado con anterioridad. Mencione las referencias estrictamente pertinentes y no incluya datos ni conclusiones del trabajo que está dando a conocer.

Materiales y Métodos

Describa claramente la forma como se seleccionaron los sujetos observados o que participaron en los experimentos (pacientes o animales de laboratorio, incluidos los testigos). Identifique la edad, el sexo y otras características importantes de los sujetos. La definición y la pertinencia de la raza o el grupo étnico son ambiguos. Los autores deberán ser particularmente cuidadosos con respecto a usar estas categorías.

Identifique los métodos, los aparatos (nombre y dirección del fabricante entre paréntesis) y los procedimientos con detalles suficientes para que otros investigadores puedan reproducir los resultados. Proporcione referencias de los métodos acreditados, incluidos los de índole estadística (véase más adelante); dé referencias y explique brevemente los métodos ya publicados pero que no son bien conocidos; describa los métodos nuevos o que han sido sustancialmente modificados, manifestando las razones por las cuales se usaron y evaluando sus limitaciones. Identifique exactamente todos

los medicamentos y productos químicos utilizados, sin olvidar nombres genéricos, dosis y vías de administración.

Los informes de ensayos clínicos aleatorizados deberán presentar información sobre todos los elementos importantes del estudio. Para mayor información sobre estos aspectos, consulte la Sección J del Título III del documento que se indica al final.

Estadística. Describa los métodos estadísticos con detalles suficientes para que el lector versado en el tema y que tenga acceso a los datos originales pueda verificar los resultados presentados. Siempre que sea posible, cuantifique los resultados y preséntelos con indicadores apropiados de error o incertidumbre de la medición (por ej., intervalos de confianza). No dependa exclusivamente de las pruebas estadísticas de comprobación de hipótesis, tales como el uso de los valores P, que no transmiten información sobre la magnitud del efecto. Analice la elegibilidad de los sujetos de experimentación. Proporcione los detalles del proceso de aleatorización. Describa los medios utilizados para enmascarar las observaciones (método ciego), indicando los resultados que dieron. Informe sobre las complicaciones del tratamiento. Especifique el número de observaciones. Mencione las pérdidas de sujetos de observación (por ej., las personas que abandonan un ensayo clínico). Siempre que sea posible, las referencias sobre el diseño del estudio y los métodos estadísticos utilizados serán de trabajos vigentes (indicando el número de las páginas), y no de los artículos originales donde se describieron por vez primera. Especifique cualquier programa de computación de uso general que se haya empleado.

Resultados

Presente los resultados siguiendo una secuencia lógica. No repita en el texto todos los datos de las Tablas ni de las ilustraciones; destaque o resuma tan solo las observaciones importantes.

Cualquier material adicional o complementario y los detalles técnicos pueden reunirse en un apéndice, de manera que estén accesibles pero sin interrumpir el flujo del texto; otra posibilidad es que dicho apéndice solo se publique en la versión electrónica de la revista.

Al resumir los datos en la sección de resultados, facilite los resultados numéricos no solo como derivados (por ej., porcentajes), sino también como los números absolutos a partir de los cuales se calcularon los derivados, y especifique los métodos estadísticos mediante los cuales se analizaron. Limite las Tablas y las Figuras al número necesario para explicar el argumento del artículo y evaluar los datos en que se apoya. Use gráficas en vez de cuadros subdivididos en muchas partes; no duplique los datos en las Gráficas y las Tablas. Evite el uso no técnico de términos de la estadística, tales como «al azar» (que entraña el empleo de un método de aleatorización), «normal», «significativo», «correlaciones» y «muestra».

Discusión

Haga hincapié en los aspectos nuevos e importantes del estudio y en las conclusiones que se derivan de ellos. No repita con pormenores los datos u otra información ya presentados en las secciones de introducción y de resultados. Explique en la sección de discusión el significado de los hallazgos y sus limitaciones, incluidas sus implicaciones para la investigación futura. Relacione las observaciones con otros estudios pertinentes.

En el caso de estudios experimentales, es útil empezar la discusión resumiendo brevemente los resultados principales; luego, analizar los posibles mecanismos o explicaciones de estos resultados; comparar y contrastar los resultados con otros estudios pertinentes; señalar las limitaciones del estudio; y, por último, explorar las implicaciones de los resultados para la investigación futura y para la práctica clínica.

Establezca el nexo entre las conclusiones y los objetivos del estudio, pero absténgase de hacer afirmaciones generales y extraer conclusiones que no estén completamente respaldadas por los datos. En particular, los autores evitarán hacer afirmaciones sobre los beneficios y los costos económicos, a menos que su manuscrito incluya datos y análisis económicos adecuados. No reclame ningún tipo de precedencia ni mencione trabajos que no estén terminados. Proponga nuevas hipótesis cuando haya justificación para ello, pero identificándolas claramente como tales.

Agradecimientos

Todos los colaboradores que no satisfagan los criterios de la autoría deben mencionarse en la sección de agradecimientos. Por ejemplo, se puede agradecer la ayuda de una persona que prestó ayuda estrictamente técnica, de alguien que ayudó con la redacción o del director de departamento que solo brindó apoyo general. También debe reconocerse el apoyo económico y material.

Tablas

Mecanografía o imprima cada tabla a doble espacio y en hoja aparte. No presente las tablas en forma de impresiones fotográficas. Numérelas consecutivamente siguiendo el orden en que se citan por primera vez en el texto, y asigne un título breve a cada una. Cada columna llevará un encabezamiento corto o abreviado. Las explicaciones irán como notas al pie y no en el encabezamiento. En las notas al pie se explicarán todas las abreviaturas no usuales empleadas en cada cuadro. Como llamadas para las notas al pie, utilícese los símbolos siguientes en la secuencia que se indica: *, †, ‡, ††, †††.

Identifique las medidas estadísticas de variación, tales como la desviación estándar y el error estándar de la media. No trace líneas horizontales ni verticales en el interior de los cuadros. Cerciórese de que cada cuadro aparezca citado en el texto.

Al aceptar un artículo, el director podrá recomendar que las tablas suplementarias que contienen datos de respaldo importantes, pero que son muy extensas para publicarlas, queden depositadas en un servicio de archivo, como el Servicio Nacional de Publicaciones Auxiliares en los Estados Unidos, o que sean proporcionadas por los autores a quien lo solicite. En tal caso, se agregará en el texto la nota informativa necesaria. Dichos tablas se presentarán junto con el artículo para su consideración por parte de los árbitros.

Ilustraciones (figuras)

Envíe los juegos completos de figuras en el número requerido por la revista. Las figuras estarán dibujadas y fotografiadas en forma profesional; no se aceptarán los letreros trazados a mano o con máquina de escribir. En lugar de los dibujos, radiografías y otros materiales de ilustración originales, envíe impresiones fotográficas en blan-

co y negro, bien contrastadas, en papel satinado y que midan 127 x 173 mm, sin exceder de 203 x 254 mm. Las letras, números y símbolos serán claros y uniformes en todas las ilustraciones; tendrán, además, un tamaño suficiente para que sigan siendo legibles incluso después de la reducción necesaria para publicarlos. Los títulos y las explicaciones detalladas se incluirán en los pies o epígrafes, no sobre las propias ilustraciones. Al reverso de cada figura pegue una etiqueta de papel que lleve anotados el número de la figura, el nombre del autor y cuál es la parte superior de la misma.

Las figuras se numerarán en forma consecutiva de acuerdo con su primera mención en el texto. Si la figura ya fue publicada, se reconocerá la fuente original y se presentará la autorización por escrito que el titular de los derechos de autor concede para reproducirla. Este permiso es necesario, independientemente de quién sea el autor o la editorial; la única salvedad son los documentos considerados como de dominio público.

Unidades de medida

Las medidas de longitud, talla, peso y volumen se expresarán en unidades del sistema métrico decimal (metro, kilogramo, litro, etc.) o sus múltiplos y submúltiplos.

Las temperaturas se consignarán en grados Celsius. Los valores de presión arterial se indicarán en milímetros de mercurio.

Todos los valores hemáticos y de química clínica se presentarán en unidades del sistema métrico decimal y de acuerdo con el Sistema Internacional de Unidades (SI). La redacción de la revista podrá solicitar que, antes de publicar el artículo, los autores agreguen unidades alternativas o distintas de las del SI.

Abreviaturas y símbolos

Utilice únicamente abreviaturas corrientes. Evite las abreviaturas en el título y el resumen. Cuando se emplee por primera vez una abreviatura en el texto, irá precedida del término completo, salvo si se trata de una unidad de medida común.

Referencias

Numere las referencias consecutivamente siguiendo el orden en que se mencionan por primera vez en el texto. En este, en los cuadros y en los pies o epígrafes de las ilustraciones, las referencias se identificarán mediante números arábigos entre paréntesis. Las referencias citadas solamente en cuadros o ilustraciones se numerarán siguiendo una secuencia que se establecerá por la primera mención que se haga en el texto de ese cuadro o esa figura en particular.

Consulte el formato que la Biblioteca Nacional de Medicina de los Estados Unidos usa en el *Index Medicus*. Abrevie los títulos de las revistas de conformidad con el estilo utilizado en dicha publicación. Consulte la *List of Journals Indexed in Index Medicus* [Lista de revistas indizadas en *Index Medicus*], que se publica anualmente. La lista se puede obtener asimismo en el sitio que la biblioteca mantiene en la World Wide Web <http://www.nlm.nih.gov/>

Las referencias a artículos que han sido aceptados pero que todavía no se publican se designarán como «en prensa» o «de próxima aparición»; los autores obtendrán por escrito el permiso para citar dichos artículos y también la verificación de que han sido aceptados para publicación.

No cite una «comunicación personal» a menos que aporte información esencial que no pueda obtenerse de una fuente pública; en ese caso, el nombre de la persona y la fecha de la comunicación aparecerán entre paréntesis en el texto.

Todas las referencias deberán presentarse de modo correcto y completo. La veracidad de la información contenida en ésta sección es responsabilidad del autor (de los autores).

EJEMPLOS

Artículos de revistas

1. Artículo estándar

Hasta seis autores:

Halpern SD, Ubel PA, Caplan AL. Solid-organ transplantation in HIV-infected patients. *N Engl J Med.* 2002;347:284-7.

Más de seis autores:

Rose ME, Huerbin MB, Melick J, Marion DW, Palmer AM, Schiding JK, et al. Regulation of interstitial excitatory amino acid concentrations after cortical contusion injury. *Brain Res.* 2002;935(1-2):40-6.

2. Institución como autor

Diabetes Prevention Program Research Group. Hypertension, insulin, and proinsulin in participants with impaired glucose tolerance. *Hypertension.* 2002;40(5):679-86.

3. No se indica el nombre del autor

21st century heart solution may have a sting in the tail. *BMJ.* 2002;325(7357):184.

4. Suplemento de un volumen

Geraud G, Spierings EL, Keywood C. Tolerability and safety of frovatriptan with short- and long-term use for treatment of migraine and in comparison with sumatriptan. *Headache.* 2002;42 Suppl 2:S93-9.

5. Suplemento de un número

Glaser TA. Integrating clinical trial data into clinical practice. *Neurology.* 2002;58(12 Suppl 7):S6-12.

6. Parte de un volumen

Abend SM, Kulish N. The psychoanalytic method from an epistemological viewpoint. *Int J Psychoanal.* 2002;83(Pt 2):491-5.

7. Parte de un número

Ahrar K, Madoff DC, Gupta S, Wallace MJ, Price RE, Wright KC. Development of a large animal model for lung tumors. *J Vasc Interv Radiol.* 2002;13(9 Pt 1):923-8.

8. Artículo publicado en formato electrónico antes que en versión impresa

Yu WM, Hawley TS, Hawley RG, Qu CK. Immortalization of yolk sac-derived precursor cells. *Blood.* 2002 Nov 15;100(10):3828-31. Epub 2002 Jul 5.

Libros y otras monografías

9. Autores individuales

Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaffler MA. *Medical microbiology.* 4th ed. St. Louis: Mosby; 2002.

10. Directores (“editores”), compiladores como autores

Gilstrap LC 3rd, Cunningham FG, VanDorsten JP, editors. *Operative obstetrics.* 2nd ed. New York: McGraw-Hill; 2002..

11. Autor (es) y editor (es)

Breedlove GK, Schorfheide AM. Adolescent pregnancy. 2nd ed. Wiczorek RR, editor. White Plains (NY): March of Dimes Education Services; 2001.

12. Institución (es) como autor

Royal Adelaide Hospital; University of Adelaide, Department of Clinical Nursing. *Compendium of nursing research and practice development, 1999-2000.* Adelaide (Australia): Adelaide University; 2001.

13. Capítulo de libro

Meltzer PS, Kallioniemi A, Trent JM. Chromosome alterations in human solid tumors. In: Vogelstein B, Kinzler KW, editors. *The genetic basis of human cancer.* New York: McGraw-Hill; 2002. p. 93-113.

14. Tesis

Borkowski MM. Infant sleep and feeding: a telephone survey of Hispanic Americans [dissertation]. Mount Pleasant (MI): Central Michigan University; 2002.

15. Patente

Pagedas AC, inventor; Ance Surgical R&D Inc., assignee. Flexible endoscopic grasping and cutting device and positioning tool assembly. United States patent US 20020103498. 2002 Aug 1.

Otros tipos de publicaciones

16. Artículo de periódico

Tynan T. Medical improvements lower homicide rate: study sees drop in assault rate. *The Washington Post.* 2002 Aug 12;Sect. A:2 (col. 4).

17. Documentos legales

Ley pública:
Veterans Hearing Loss Compensation Act of 2002, Pub. L. No. 107-9, 115 Stat. 11 (May 24, 2001).

Material en soporte electrónico*18. CD-ROM*

Anderson SC, Poulsen KB. Anderson's electronic atlas of hematology [CD-ROM]. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2002.

19. Artículo de revista en Internet

Aboud S. Quality improvement initiative in nursing homes: the ANA acts in an advisory role. Am J Nurs [serial on the Internet]. 2002 Jun [cited 2002 Aug 12];102(6):[about 3 p.]. Available from: <http://www.nursingworld.org/AJN/2002/june/Wawatch.htm>

Costo por página

Debido a los altos costos de impresión y publicación, ALAN ha estipulado dentro de su política editorial, el cobro de U.S. \$ 15 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.

Por motivo de no existir al presente una traducción oficial al español, se transcribe por razones de espacio, sólo los títulos que comprenden la versión actualizada a Octubre de 2008, del documento que sigue. Para una lectura completa de esta versión, los autores deben acudir al siguiente sitio <http://www.icmje.org>

UNIFORM REQUIREMENTS FOR MANUSCRIPTS SUBMITTED TO BIOMEDICAL JOURNALS: WRITING AND EDITING FOR BIOMEDICAL PUBLICATION. Updated October 2008.

- I. Statement of Purpose
 - A. About the Uniform Requirements
 - B. Potential Users of the Uniform Requirements
 - C. How to Use the Uniform Requirements
- II. Ethical Considerations in the Conduct and Reporting of Research
 - A. Authorship and Contributorship
 1. Byline Author
 2. Contributors Listed in Acknowledgements
 - B. Editorship
 1. The Role of the Editor
 2. Editorial Freedom
 - C. Peer Review
 - D. Conflict of Interest
 1. Potential Conflicts of Interest Related to Individual Author's Commitments
 2. Potential Conflicts of Interest Related to Project Support
 3. Potential Conflicts of Interest Related to Commitments of Editors, Journal Staff, or Reviewers
 - E. Privacy and Confidentiality
 1. Patients and Study Participants
 2. Authors and Reviewers
 - F. Protection of Human Subjects and Animals in Research

III. Publishing and Editorial Issues Related to Publication in Biomedical Journals

- A. Obligation to Publish Negative Studies
- B. Corrections, Retractions and "Expressions of Concern".
- C. Copyright
- D. Overlapping Publications
 1. Duplicate Submission
 2. Redundant Publication
 3. Acceptable Secondary Publication
 4. Competing Manuscripts based on the Same Study
 - a. Differences in Analysis or Interpretation
 - b. Differences in Reported Methods or Results
 5. Competing Manuscripts Based on the Same Database
- E. Correspondence
- F. Supplements, Theme Issues and Special Series
- G. Electronic Publishing
- H. Advertising
- I. Medical Journals and the General Media
- J. Obligation to Register Clinical Trials

IV. Manuscript Preparation and Submission

- A. Preparing a Manuscript for Submission to Biomedical Journals
 1. a. General Principles
 - b. Reporting Guidelines for Specific Study Designs
 2. Title Page
 3. Conflict of Interest Notification Page
 4. Abstract and Key Words
 5. Introduction
 6. Methods: a) Selection and Description of Participants.
 - b) Technical Information.
 - c) Statistics
 7. Results
 8. Discussion
 9. References.
 - a) General Considerations Related to References.
 - b) Reference Style and Format
 10. Tables
 11. Illustration (Figures)
 12. Legends for Illustrations (Figures)
 13. Units of Measurements
 14. Abbreviations and Symbols
- B. Sending the Manuscript to the Journal

V. References

- A. Print References Cited in this Document
- B. Other Sources of Information Related to Biomedical Journals

VI. About the International Committee of Medical Journal Editors

VII. Authors of the Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biochemical Journals

VIII. Use, Distribution and Translation of the Uniform Requirements

IX. Inquires

Archivos Latinoamericanos de Nutrición

Volumen 60. N° 3, Septiembre 2010

Contenido

ARTICULOS GENERALES

- Alimentos autóctonos de las comunidades indígenas y afrodescendientes de Colombia**
Ximena Rivas Abadía, Sonia Carolina Pazos, Silvana Katerin Castillo Castillo, Helena Pachón 211

PERSPECTIVA

- Estado nutricional, estilo de vida e risco cardiovascular de ovolactovegetarianos e onívoros**
Keila Fernandes Dourado, Florisbela de Arruda Câmara e Siqueira Campos, Hernando Flores Rojas, Shirley Kelly dos Santos Simões, Leonardo Pereira de Siqueira 220

TRABAJOS DE INVESTIGACION

Nutrición Humana

- Consumo alimentar e concentrações intra-eritrocitárias de folato em mulheres do Recife, Nordeste do Brasil**
Janaina Almeida Dantas, Alcides da Silva Diniz e Ilma Kruze Grande de Arruda 227

- Influência da idade gestacional e da paridade sobre a concentração de retinol no colostro humano**
Roberto Dimenstein, Juliana Cristina de Oliveira Dantas, Ana Caroline Perez Medeiros, Lahyana Rafaella de Freitas Cunha 235

Nutrición Experimental

- Estimación de la masa grasa por DXA y el modelo de cuatro compartimentos en púberes mexicanos de 9 a 14 años**
Erik Ramirez, Mauro E. Valencia, Silvia Y. Moya Camarena, Heliodoro Alemán-Mateo, Rosa O. Méndez 240

Consumo de Alimentos

- Factores asociados al consumo de frutas y verduras en Bucaramanga, Colombia**
Edna Magaly Gamboa Delgado, Nahyr López Barbosa, Gloria Esperanza Prada Gómez, José Tomás Franco Cadena, Ariel Landínez Navarro 247

Microbiología de Alimentos

- Detección de *Listeria monocytogenes* en queso blanco criollo, mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR)**
Luis Guillermo Ramírez Mérida, Alba Morón de Salim, Ana Yudith Alfieri Graterol, Orlando Gamboa 254

- Avaliação físico-química e microbiológica do leite UHT comercializado em três países do Mercosul (Brasil, Argentina e Paraguai)**
Domareski Jackson Luiz, Bandiera Nataly Simões, Sato Rafael Tamostu, Aragon-Alegro Lina Casale, Santana Elsa Helena Walter de 261

Ciencia de Alimentos

- El glaseado incorporando hidrocoloides como alternativa en el empaque de lomo de atún (*Thunnus thynnus*) congelado y almacenado a -10°C**
Sarahi Mena, Leonardo Rodríguez y Marinela Barrero 270

- Effect of processing and storage time on the vitamin C and lycopene contents of nectar of pink guava (*Psidium guajava* L.)**
Luis E. Ordóñez-Santos and Andrea Vázquez-Riascos 280

Tecnología de Alimentos

- Bebida mista à base de goiaba (*Psidium guajava* L.) e palma forrageira (*Opuntia ficus-indica*): desenvolvimento e aceitabilidade**
Rita Débora de Sá Rodrigues Batista, Robson Alves da Silva, Tatiane Menezes Brandão Teresinha Rodrigues Veloso, Josyanne Araújo Neves, Débora Nascimento e Santos 285

- Barras de amaranto enriquecidas com frutanos: aceitabilidade e valor nutricional**
Vanessa Dias Capriles, José Alfredo Gomes Arêas 291

LatinFoods. Composición de Alimentos

- Folate content and retention in selected raw and processed foods**
Bassett, M.N. and Sammán, N.C. 298

- Composición en ácidos grasos de alimentos de alto consumo por la población escolar de la región Metropolitana de Chile, incluyendo contenido en ácidos grasos trans**
Zamorano M., Llanquin P., Montealegre R. 306

- NOTAS NECROLOGICAS** 312

- INFORMACION PARA LOS AUTORES** 314