

# Archivos Latinoamericanos de Nutrición

Organo Oficial de la  
Sociedad Latinoamericana de Nutrición

---

**VOL 58**

**MARZO 2008**

**Nº 1**

---

## Contenido

Páginas

### TRABAJOS DE INVESTIGACION

#### Nutrición Infantil

**Effect of infant formula with probiotics on intestinal microbiota**

*Manuel E. Baldeón, Gabriela Naranjo, Diego Granja* ..... 5

#### Bioquímica Nutricional

**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**

*Maria Nieves García-Casal, Irene Leets, Carmen Bracho, Mariana Hidalgo, Gilberto Bastidas, Ana Gomez, Ana Peña, Hilda Pérez* ..... 12

#### Embarazo y Hábitos Alimentarios

**Hábitos de alimentación y factores culturales en adolescentes embarazadas**

*Claudia Carolina Herrera-Suárez, Edgar M. Vásquez-Garibay, Enrique Romero-Velarde, Hiliana P. Romo-Huerta, Javier E. García De Alba García, Rogelio Troyo-Sanromán* ..... 19

#### Nutrición y Aprendizaje

**Cooperative learning strategies to teach nutrition to geriatric nursing staff**

*Marta Arroyo, Ana M<sup>a</sup> Rocandio, Laura Ansotegui, Estíbaliz Pascual, Concepción Martínez de la Pera* ..... 27

## Nutrición y Productividad

- Short stature and food habits as determining factors for the low productivity of sugarcane labourers in the State of Alagoas, north-eastern Brazil**  
*Telma T Florêncio, Haroldo S Ferreira, Jairo C Cavalcante, Monica L de Assunção, Ana Lydia Sawaya* ..... 33

## Disponibilidad Alimentaria

- Cambios en la disponibilidad de alimentos en el Gran Santiago por quintiles de ingreso. 1988-1997**  
*Mirta Crovetto, Ricardo Uauy* ..... 40

## Selección de Alimentos

- Percepción diferenciada de salsa de tomate transgénica en el sur de Chile**  
*B. Schnettler Morales, O. Sepúlveda Bravo, D. Ruiz Fuentes y M. Denegri Coria* ..... 49

## Microbiología de Alimentos

- Detección de la enterotoxina A de *Staphylococcus aureus* mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y su correlación con las pruebas de coagulasa y termonucleasa**  
*María José Suarez, María Laura Arias y María del Mar Gamboa* ..... 59

## Ciencia de Alimentos

- La cáscara de cacao (*Theobroma cacao* L.): una posible fuente comercial de pectinas**  
*Humberto Barazarte, Elba Sangronis, Emaldi Unai* ..... 64

## Tecnología de Alimentos

- Uso del cowpea (*Vigna unguiculata*) en mezclas con fríjol común (*Phaseolus vulgaris*) en el desarrollo de nuevos productos alimenticios**  
*Claudia Maritza López Guerra y Ricardo Bressani* ..... 71

## LatinFoods. Composición de Alimentos

- Determinação de folatos em espinafre – avaliação da influência do tipo de cultivo, época de colheita e cozimento**  
*Juliana Azevedo Lima-Pallone, Rodrigo Ramos Catharino, Helena Teixeira Godoy* ..... 81

- Fatty acid concentration, proximate composition, and mineral composition in fishbone flour of Nile Tilapia**  
*Maria Eugênia Petenuci, Flávia Braidoti Stevanato, Jeane Eliete Laguila Visentainer, Makoto Matsushita, Edivaldo Egea Garcia, Nilson Evelázio de Souza, Jesui Vergilio Visentainer* ..... 87

- Caracterización nutricional de pescados de producción y consumo regional en Bucaramanga, Colombia**  
*Aide Perea, Elieth Gómez, Yamile Mayorga, Cora Yohanna Triana* ..... 91

- Composición química y capacidad antioxidante en fruta, pulpa y mermelada de guayaba (*Psidium guajava* L.)**  
*Marquina V, Araujo L, Ruíz J, Rodríguez-Malaver A, Vit P.* ..... 98

- Efecto de diferentes métodos de cocción en la composición proximal, minerales y metales pesados de pescados y camarones consumidos en el Golfo Arabe**  
*Abdulrahman O. Musaiger and Reshma D'Souza* ..... 103

- NOTAS NECROLOGICAS** ..... 110  
**INFORMACION PARA LOS AUTORES** ..... 111

## Effect of infant formula with probiotics on intestinal microbiota

Manuel E. Baldeón, Gabriela Naranjo, Diego Granja

Instituto de Investigación en Salud y Nutrición, Universidad San Francisco de Quito. Ecuador

**SUMMARY.** Weaning during infancy refers to the initiation of complementary food to breast milk. During weaning, there are significant changes on the gastrointestinal microbiota. Deleterious alterations of the gastrointestinal microbiota can result in pathological processes while measures that stimulate its development and stability, like the use of probiotics, are beneficial. The mechanisms by which probiotics achieve their effects have not been clearly established. Present work compares the microbial composition of feces from infants that were weaned to regular family food, formula with probiotics (*B. Lactis BL* y *S. Thermophilus*) or formula without probiotics. Accordingly, analysis of rDNA of microbial fecal samples by molecular techniques was used. Formula with or without probiotics was well tolerated and safe for all participating children. Probiotics present in formula were viable and susceptible to culture. There was not difference on physical growth or development among all participants. The microbiota of children supplemented with formula with- or without probiotics was different than that observed in children supplemented with regular food. It was not possible to determine enrichment of *B. Lactis BL* and *S. Thermophilus* in the feces of children that consumed the probiotics. Present work contributes to the understanding of probiotics effects in human health.

**Key words:** Microbiota, probiotics, infant formula, DGGE, Ecuador.gram, assessment of knowledge, nurses; nursing assistants.

**RESUMEN. Efecto de formula infantil con probioticos en la microbiota intestinal.** Durante el periodo de la alimentación complementaria en la infancia, se producen cambios significativos en la microbiota intestinal. Alteraciones que afecten negativamente a la microbiota pueden resultar en procesos patológicos mientras que medidas tendientes a estimular su desarrollo y estabilidad, como el uso de alimentos probióticos, podrían ser beneficiosas para la salud. Los mecanismos por los cuales los alimentos probióticos logran estos efectos beneficiosos no se han establecido claramente. La presente investigación compara la composición microbiana de las heces de infantes que recibieron como alimentación complementaria: la comida regular de la familia, formula infantil con probióticos (*B. Lactis BL* y *S. Thermophilus*) o formula infantil sin probióticos. Con este propósito se analizaron por métodos moleculares el rDNA microbiano en muestras de heces fecales de los infantes participantes. Las formulas infantiles con o sin probióticos fueron bien toleradas por los infantes. Los probióticos presentes en la formula infantil correspondiente fueron viables y susceptibles de ser cultivados. No hubieron diferencias en el crecimiento físico ni en el desarrollo de los infantes. La microbiota de niños que recibieron formula infantil con o sin probióticos fue diferente de la microbiota de niños complementados con la comida regular. No fue posible evidenciar enriquecimiento de *B. Lactis BL* y *S. Thermophilus* en las heces de niños que consumieron la formula con probióticos. El presente trabajo contribuye a una mejor comprensión de los efectos de los probióticos en la salud humana.

**Palabras clave:** Microbiota, probióticos, formula infantil, DGGE, Ecuador.

### INTRODUCTION

Breast milk is the ideal food for infants during the first six months of life. After this period, complementary feeding is necessary to fulfill infant's nutritional requirements (1). During the period of complementary feeding (weaning) that can last up to two years, there is a gradual replacement of breast milk with family food (1). The introduction of complementary feeding causes significant changes on the gastrointestinal microbiota (2). During weaning there is also an increased incidence of gastrointestinal and respiratory infections with the consequent nutritional deterioration (3).

The gastrointestinal microbiota is a complex ecosystem that has several nutritional and immunological related functions like stimulation of intestinal maturity, maintenance of the mucus barrier, increase in the absorption of nutrients,

protection against infectious agents and stimulation of the immune system (4). Conditions that alter the composition of the normal microbiota, for example the use of antibiotics, can provoke pathological processes such as diarrheic syndromes. Conversely, measures that stimulate the development and stability of the normal microbiota, such as the use of pre- or probiotics, have been associated with resistance to infections (5). In this sense, it is important to note that the composition of the intestinal microbiota varies depending on the individual's diet (6).

Probiotics are live microbial feed supplements that are marketed as products that improve the intestinal microbial ecosystem providing beneficial effects to the host (7). Probiotics have proven useful in the prevention of diarrhea in people who travel to developing countries, diarrhea caused by the use of antibiotics, and diarrhea caused by rotavirus (8).

Currently, there is an ample use of probiotics worldwide although scientific data that would support its use is scarce (9). The mechanisms by which probiotics achieve their beneficial effects on human health have not been clearly established. Similarly, there are few studies that have evaluated the changes in the gastrointestinal microbiota during and after the consumption of this type of foods (9). This lack of information is in part due to difficulties in accurately assessing the complex gut microbiota from intestinal content or fecal samples. Normal microbiota includes approximately 400 different species of bacteria, most of which are difficult to culture *in vitro* (2). Traditional methods of bacteria culture can only assess known bacteria. Currently, traditional methods have been complemented with molecular techniques to analyze the microbiota of the gut (10). These approaches study the rRNA and its encoding genes as individual markers for each component of the microbiota (11). Few studies have assessed the effect of probiotics in the composition of intestinal microbiota in general and in particular, there is a paucity of information regarding the use of formula with probiotics in infants during the stage of complementary feeding. Accordingly, the general objective of the present study was to compare the microbial composition of the feces from infants that were weaned to either regular family food, formula with probiotics (*B. Lactis BL* y *S. Thermophilus*) or formula without probiotics in the city of Quito, Ecuador. In addition, the study evaluated the frequency of acute respiratory and intestinal infections as well as the nutritional status of the infants during the study period.

## METHODS

All infants participating in this study were recruited from deprived areas of the city of Quito through a program carried out by Children International Foundation. Exclusively breast fed children between 4 to 6 months of age were randomly divided in three groups as follows, children supplemented with regular family food (n=5; identification number in the study 1, 2, 3, 4, 9); children supplemented with formula with probiotics *Bifidobacterium Lactis BL* and *Streptococcus Thermophilus* (n=5; 5, 6, 13, 14, 15); and children supplemented with formula without probiotics (n=5; 7, 8, 10, 11, 12); All participating children were born at term, weighing more than 2,500 grams, without any acute or chronic illness at the moment of recruitment. Also, children had to be under direct care of an adult. Care givers of children assigned to receive formula, were instructed to prepare the formula supplement following the vendor's recommendations according to the infant's age. The formulas with and without probiotics are currently commercialized in Ecuador. Each formula contains 3.3 grams of protein; 4.4 grams of fat; and 11.8 grams of carbohydrates per 100 Kcal of the product. Both

formulas contain casein, vegetable oil, maltodextrin, lactose, vitamins and minerals in accordance with U.S. Food and Drug Administration regulations. The composition of regular family food for those children that did not receive formula was not assessed. Children had a monthly clinical visit where they were evaluated to determine their nutritional status, psychomotor development and the presence of any abnormal pathology. Nutritional status was principally determined by standardized anthropometry.

### Monitoring of formula consumption

In order to ensure the adequate intake of the supplemented formula, the following measures were taken. During the monthly medical visit, Dr. GN counted the number of formula cans consumed through that month. Also, children were monitored by weekly phone calls. Caregivers were asked about how they were preparing the formula, compliance of the infants, and general health status of the infants.

### Microbiological analysis of formula with probiotics

All infant formulas with and without probiotics used in this study are currently commercialized in Ecuador and were provided by the local vendor. The infant formula with probiotics contains  $10^8$  colony forming units (CFU) of *B. Lactis BL* and  $10^8$  CFU *S. Thermophilus* per gram of powder. Infant formulas were stored at room temperature. To test the viability of *Bifidobacterium Lactis BL* and *Streptococcus Thermophilus* in the formula with probiotics, a random sample of the formula with probiotics cans was used. In addition, an analysis of the formula without probiotics was performed as control; formula samples were assayed in triplicate. Initially one gram of the formula was diluted in 10 ml of thuyoglycolate broth and cultured aerobically and anaerobically overnight at 37°C. Subsequently, ten micro liters of broth enriched with bacteria was plated in Raffinose-Bifidobacterium agar, a selective medium for Bifidobacterium (12) and ten micro liters in Streptococcus thermophilus agar, a selective medium for *Streptococcus Thermophilus* (13). Then, single colonies from plates were cultured aerobically and anaerobically in selective medium for *B. Lactis BL* and *S. Thermophilus* (12,13).

To properly identify *B. lactis* and *S. thermophilus*, morphological as well as molecular methods were used. Conventional Gram staining was done for every culture from the formula with or without probiotics. In addition, PCR analysis using specific primers for *B. Lactis BL* and *S. Thermophilus* were used to further characterize these bacteria in the formulas (14,15). Microbial DNA was isolated from cultures derived from formula with and without probiotics and PCR analysis with specific primers was performed. To determine the specificity of the primers uses, DNA from several pure cultures of different bacteria were used including pure cultures of *B. Lactis BL* and *S. Thermophilus* (16).

### Collection of fecal samples

Fecal samples were collected at the beginning of the study, one month and at six months after formula supplementation. All mothers were instructed to place fresh fecal samples immediately at 4°C, and take them to the clinic within 2 hours after defecation, where samples were stored at -20°C until assayed.

### DNA isolation from fecal samples

Genomic DNA was extracted using the MoBio Fecal DNA Sample Kit according to manufacturer recommendations (Carlsbad, CA). With this procedure, 0.25 g of faecal material typically yielded 30 to 50 micrograms of DNA.

### Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE)-PCR

The genetic fingerprinting tool, Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE)-PCR was used to differentiate bacterial isolates and identify complexity, dynamics and diversity, including subspecies differentiation of the fecal microbiota (17). Each DNA isolate from the fecal samples was amplified with universal bacteria PCR primers for conserved sequences flanking the variable V3 region of 16S rDNA (534R and 341F), as described previously (18). PCR products were identified by regular agarose gel electrophoresis through the presence of a band of ~ 200 bp (17). To remove single-stranded DNA from the PCR products, 0.75 U of mung-bean nuclease (Stratagene, La Jolla, CA) was added to 15 µL of PCR product (10). After 10 min of incubation at 37°C, mung-bean nuclease reaction was stopped by the addition of 10 µL of DGGE loading buffer (0.05% bromophenol blue, 0.05% xylene cyanol and 70% glycerol in sterile water). Samples were stored at -20°C until DGGE analysis. To separate PCR fragments, 35-60% linear DNA-denaturing gradients urea, pormamide, 8% polyacrylamide gels were used (A 100% denaturing solution contains 40% (vol/vol) formamide and 7M urea). Products were separated by electrophoresis at 60°C at 150 V for 2 h, then for 1 h at 200 V. After electrophoresis,

gels were silver-stained and scanned using a GS-710 calibrated imaging densitometer (BioRad). When treatment-dependent differences in banding profiles were observed, individual 16S-V3 rDNA bands were excised, re-amplified, cloned and sequenced using an automated sequencing system at the W.M. Keck Center for Comparative and Functional Genomics, (University of Illinois). Sequence data was analyzed using a BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>) search for phylogenetic identification.

### Statistical analysis

PCR-DGGE band number and the qPCR quantification of each respective bacterial species were subjected to an analysis of variance (ANOVA) using SAS (Version 6.09; The SAS Institute, Cary, NC). The partitioned sources of variation included treatment, day, and their interactions. Specific treatment comparisons was made using Fishers Protected Least Significant Difference test with an assigned P-value of < 0.05. Dendrograms representing clustering patterns of microbial profiles was generated with Diversity Database (Version 2.2.0; BioRad) using Ward's algorithm.

The Ethics Committee of Universidad San Francisco de Quito approved the study.

## RESULTS

### Subject participants

All children recruited at the beginning of the study completed the trial. General characteristics of children and time of consumption of the formula supplement are indicated in Table 1. The range of days of formula consumption was 180 to 190 days and it was not different among the groups consuming formula. Care providers of all children that received formula with or without probiotics reported that their children had good acceptability of the product and did not report adverse effects that they could associate with formula consumption.

TABLE 1  
General characteristics of children and duration of supplementation trial

	No. children (n = 15)	Formula with probiotics (n = 5)	Formula without probiotico (n = 5)	Regular family food (n = 5)
1. Sex M/F	6/9	2/3	1/4	3/2
2. Age at entry (Months and days) +/- SD	7m 10d+/-21d	7m 18d+/-7d	7m 6d+/-25d	7m 6d+/-25d
3. Age at discharge (Months and days) +/- SD	13m 10d+/-21d	13m 17d+/-16d	13m 6d+/-25d	13m 6d+/-25d
4. Days of trial (range)	180 - 190	180	190	182

The follow up anthropometric analysis of participating children is indicated in Table 2. There were not differences in the anthropometric values between the groups at the beginning of the study. There were no differences in physical growth among the three groups of children. The increase in weight, height, and head circumference were similar among the three

groups. During the six months of the study it was observed that all children presented slower growth than expected in spite of food availability. However, at the time of recruitment when all children were consuming breast milk, all children had the expected weight, height for their age Table 2.

TABLE 2  
Growth data for all participating infants

	Formula with probiotics			Formula without probiotics			Regular food		
	Initial	Final	Gain	initial	Final	Gain	initial	Final	Gain
Weight (Kg)	8.06 +/- 0.51	9.56 +/- 1.06	1.5	7.64 +/- 0.39	9.18 +/- 1.0	1.5	7.72 +/- 0.42	9.42 +/- 0.94	1.7
Height (cm)	68.14	72.24	6.1	65.54	70.68	5.8	65.1	71.0	5.9
Head circumference (cm)	43.52	46.66	3.1	42.94	46.34	3.4	43.4	46.14	2.7

During the monthly clinical visit, care providers for the children were asked for the presence of acute respiratory and intestinal infections. Children in all treatment groups presented similar number of acute infections (data not shown). Due to the limited number of children per treatment group, it is not possible to establish statistical differences among the three groups. The high frequency of acute infections among the three groups could explain the slower growth observed in all the children Table 2.

#### Microbiological analysis of formula with probiotics

To test the viability of probiotics in the infant formulas, one gram of formula with or without probiotics were cultured as indicated in the methodology section. Positive cultures were obtained only in the samples from the formula with probiotics.

Typical forms of *streptococcus* were observed in cultures selective for *S. Thermophilus* (not shown). Similarly, typical forms of *bacilli* were observed in cultures selective for *B. lactis* (not shown). Further PCR analysis using specific primers for *B. Lactis BL* and *S. Thermophilus* were used to characterize the isolated bacteria from the infant formula with probiotics (14,15). Initially, the specific primers for *B. Lactis BL* and *S. Thermophilus* were used with pure cultures of these bacteria (16), Germany). Pure cultures were used as positive controls for molecular and morphological studies. Isolates from formula with probiotics were subjected to PCR analysis using specific primers for *B. Lactis BL* and *S. Thermophilus*. A unique band

that corresponded to the expected size for *B. Lactis BL* or *S. Thermophilus* in the formula isolates as well as in the pure culture controls were observed (not shown). To further test the specificity of the primers for *B. Lactis BL* and *S. Thermophilus*, microbial DNA was isolated from several pure cultures of different bacteria and were subjected to PCR analysis. As shown in Figure 1, only DNA from cultures of *B. Lactis BL* and *S. Thermophilus* amplified a band corresponding to each of these bacteria using the specific primers. Together, this data indicates that bacteria isolated from formula with probiotics corresponded to *B. Lactis BL* and *S. Thermophilus*.

#### Microbial composition of the feces by Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE)-PCR

To compare the microbial composition of the feces from infants supplemented with either regular family food, formula with probiotics (*B. Lactis BL* y *S. Thermophilus*); or formula without probiotics, PCR-DGGE analysis was carried out as indicated in the methodology section. Fecal samples of participating children were collected before formula supplementation and one and six months after the introduction of the formulas.

The universal primers used in an initial amplification yielded a product of approximately 200 base pairs (data not shown). To separate the PCR products, denaturing 8% polyacrylamide gels were prepared so that 35-60% linear DNA-denaturing gradient was formed (100% denaturant is

equivalent to 7 mol/L urea and 40% deionized formamide). PCR-DGGE was run at 150 V for 2 h at 60°C, then for 1 h at 200 V. As reference markers, ladders representing known bacterial strains were also run to standardize band migration among different gels. After wards, the electrophoresis gels were silver stained and scanned in a GS-710 Calibrated Imaging Densitometer (Gibco). Figures 2 shows typical band patters observed after DGGE analysis. Each gel contained the samples of 5 children and every child had three fecal samples taken before one and six months after complementary food was started. Children 1, 2, 3, 4, and 9 were supplemented with regular family food; children 5, 6, 13, 14, and 15 were supplemented with formula with probiotics; and children 7, 8, 10, 11, and 12 received formula without probiotics.

FIGURE 1

PCR products of 16sDNA V3 region from bacteria isolated from formula with probiotics

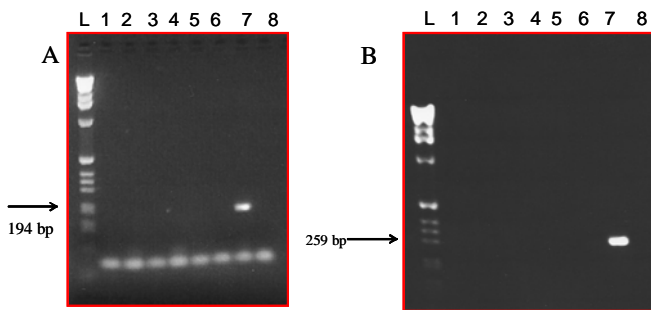
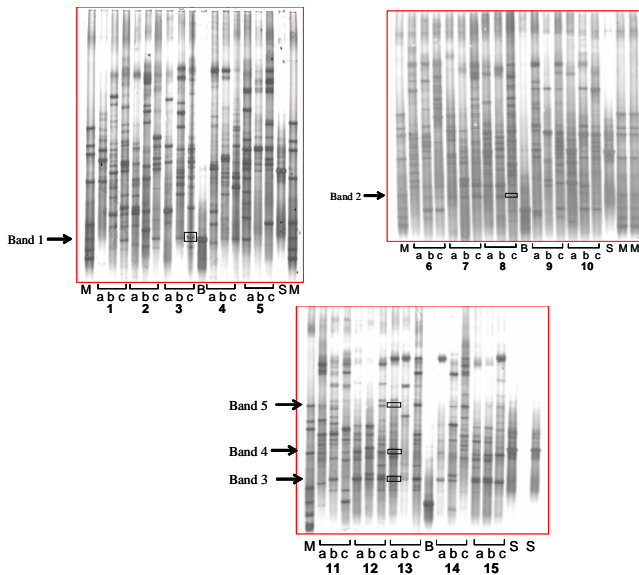


FIGURE 2

DGGE analysis of fecal samples from children supplemented with or without probiotics

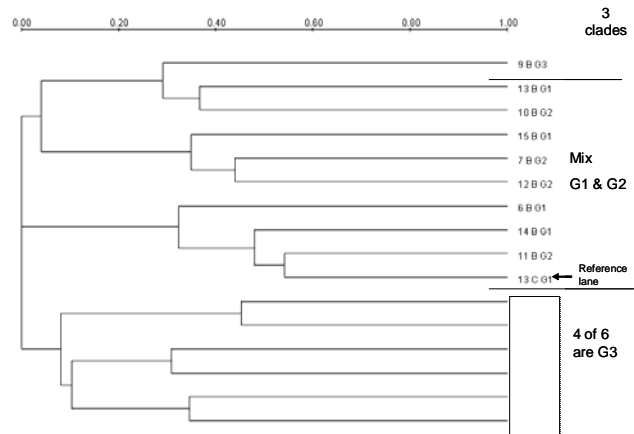


The effects of the diet supplement on the number of PCR-DGGE bands expressed in each sample were compared. The number of bands in the samples collected at the beginning of the study was similar among the three groups (not shown). There were not significant differences in the number of bands in the samples taken at one month and six months after the beginning of the study.

The effects of weaning diets on microbial composition were also assessed by cluster analysis based on Ward’s algorithm. Ward’s algorithm is used to form hierarchical groups of mutually exclusive subsets. This analysis is regularly used to cluster the PCR-DGGE banding pattern based in their similarities and differences (18). The microbial populations of children that received formula or formula with probiotics more closely resembled each other than they did the children who were supplemented with regular food (data not shown). This was more evident after one month of supplementation, children supplemented with regular family food clustered together apart from children that received formula (Figure 3).

FIGURE 3

Dendrogram representing dietary correlations of PCR-DGGE banding patterns in fecal samples from children supplemented with formula with probiotics or without probiotics and regular family food



Analysis of band patterns present in the three treatment groups indicated the presence of common bands in all groups as well as some bands that were predominantly in one or two of the groups (Table 3). To identify the bands, arbitrary numbers were assigned to each band. Band number one was present predominantly in the feces of children supplemented with regular family food group while bands 2 and 3 were more common in the feces of children supplemented with formula with or without probiotics (Table 3). Also, bands 4 and 5 were present in all the groups. Table 3 summarizes the characterization of this selected group of bands that were excised from the DGGE gels for cloning and sequencing as

indicated in materials and methods. Sequence data was analyzed using a BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>) search for phylogenetic identification. These data

indicate that supplementation of infants with regular food or formula with or without probiotics can influence the microbial composition of the fecal microbiota.

TABLE 3  
Identification of bands excised from PCR-DGGE  
gels determined by sequence alignment

Band Number	GeneBank accession No	Percent similarity	Identity	Treatment Group
1 (G3)	AY856700	99%	<i>Bifidobacterium</i> sp. h12	Regular family food
2 (G1, G2)	AY736853	83	<i>Bifidobacterium longum</i> bv. <i>Infantis</i>	Formula with or without probiotics
2 (G1, G2)	AY986349	99%	Uncultured bacterium	Formula with or without probiotics
3 (G1, G2)	AF371550	94%	Uncultured bacterium	Formula with or without probiotics
4 (G1-3)	AY806191	99%	uncultured <i>Streptococcus</i> sp.	All treatment groups
5 (G1-3)	AY985751	98%	uncultured <i>Streptococcus</i> sp.	All treatment groups

(G1) = Formula with probiotics, children identification number 5, 6, 13, 14, 15

(G2) = Formula without probiotics, children identification number 7, 8, 10, 11, 12

(G3) = Regular family food, children identification number 1, 2, 3, 4, 9

## DISCUSSION

The data presented here indicate that formula with or without probiotics was well tolerated and safe for all participating children. *B. Lactis BL* and *S. Thermophilus* present in the formula with probiotics were viable and susceptible to culture. There was not difference on physical growth or development among children who were supplemented with formula, formula with probiotics, or regular family food. However, all participating children in the trial presented inadequate growth during the six months of the trial in spite of food availability. Inadequate growth could be the result of the frequent acute intestinal and respiratory infections observed in all participants.

Previous work has demonstrated the beneficial effects of formulas containing *B. Lactis BL* and *S. Thermophilus* (19, 20). Corrêa NFO, et al. demonstrated that consumption of *B. Lactis BL* and *S. Thermophilus* was associated with a prevention of antibiotic-associated diarrhea (19). In that study the microbiota composition of participating infants was not assessed. In a recent report Saavedra et al. evaluated the safety and tolerance of a formula with the same probiotics used in the present study in 118 infants demonstrating the safety in their use (20). In that report, children that consumed formula with *B. Lactis BL* and *S. Thermophilus* had lower use of antibiotics and lower reports on intestinal pain than infants

that were supplemented with formula without probiotics (20). Similar to the previous report, Saavedra's study did not analyze possible effects of probiotics on microbiota composition of the studied population (20). In the present study, all participating children presented similar number of acute diarrhea and acute respiratory infections. In addition, also contrasting with Saavedra's report, all children had inadequate growth. The differences in growth and the frequency of acute infections in the present study and the ones reported by Saavedra could be due to settings where the studies were carried out. Present study was carried out with a group of mestizo infants (mix of Indians and white Spanish) living in poor neighborhoods in Quito – Ecuador, a developing country whereas Saavedra's study was carried out in the metropolitan area of Baltimore – United States. Other studies carried out in developing countries with probiotics proved useful in developed countries have failed to demonstrate the beneficial effects of these known probiotics (21). For instance, a randomized controlled trial that studied the effect of *Lactobacillus* strain GG (LGG) in 124 male patients between 1–24 months of age with different severity of diarrhea demonstrated that there was not significant reduction in diarrhea duration in subjects given LGG compared with controls (22). Present report highlights the importance of evaluating a product like a formula with probiotics in different environments such as a developed and developing countries

where ethnicity, sanitation, education, availability of resources (better socioeconomic conditions) are different.

The present data indicate that the microbiota of children supplemented with formula with- or without probiotics was different than that observed in children supplemented with regular food. With the molecular methods used here it was not possible to determine enrichment of *B. Lactis BL* and *S. Thermophilus* in the feces of children that consumed the probiotics. DGGE analysis can only detect microbes that constitute at least one percent of the population in a microbial echo system. It is possible that the consumption of the formula with probiotics at the present doses does not permit an increment of the bacteria enough to be detected by DGGE. Although a dose-effect relationship has been suggested, there are limited studies of pharmacokinetic on probiotics (21). The high frequency of acute diarrhea among the participating children could also modify the microbiota and in that way hindering any effect of the probiotics. Further studies with higher doses of *B. Lactis BL* and *S. Thermophilus* may be necessary to change the microbial composition of feces. Also more research with a greater number of subjects from different geographical areas is needed to correlate clinical data and composition of the microbiota.

#### ACKNOWLEDGEMENTS

We would like to thank all participating children and their caregivers. We also thank Dr. Rex Gaskins, Jennifer Croix, and Noriko Nakamura for their technical assistance. This work received partial financial support from Sustainable Sciences Institute.

#### REFERENCES

- Giugliani ERJ, Victoria CG2000. Complementary feeding. J pediatr (Rio J) 76(Supl.3):S253-S262.
- McCracken VJ, Lorenz RG 2001 The gastrointestinal ecosystem: a precarious alliance among epithelium, immunity and microbiota. Cell Microbiol 3:1-11.
- WHO Working Group on Infant Growth1994. An evaluation of infant growth. Geneva: World Health Organisation.
- Macpherson AJ, Harris NL 2004. Interactions between commensal intestinal bacteria and the immune system. Nat Rev Immunol 4:478-485.
- Duggan C, Gannon J, Walker WA 2002. Protective nutrients and functional foods for the gastrointestinal tract. Am J Clin Nutr 75:789-808.
- Harmsen HJ, Wildeboer-Veloo ACM, Raangs GC, Wagendorp AA, Klijn N, Bindels JG, Welling GW 2000. Analysis of intestinal flora development in breast-fed and formula-fed infants by using molecular identification and detection methods. J Pediatr Gastroenterol Nutr 30:61-67.
- Berg RD 1998. Probiotics, prebiotics or "conbiotics"? Trends in Micro 6:89-92.
- Guandalini S, Pensabene L, Zikri MA, Mona A, Dias JA, Casali LG, et al 2000. Lactobacillus GG administered in oral rehydration solution to children with acute diarrhea: a multicenter European trial. J Pediatr Gastroenterol Nutr 30:54-60.
- Abbott A 2004. Gut reaction. Nature 427:284-286.
- Zoetendal EG, Collier CT, Koike S, Mackie RI, Gaskins HR 2004. Molecular ecological analysis of the gastrointestinal microbiota: a review. J Nutr 134:465-72.
- Amann RI, Ludwig W, Schleifer KH 1995. Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation. Microbiol Rev 59:143-169.
- Hartemink R., Kok BJ., Weenk GH., Rombouts FM 1966. Raffinose-Bifidobacterium (RB) agar, a new selective medium for bifidobacteria. J Microbiol methods, 27: 33-43.
- Dave RI., Shah NP 1995. Evaluation of Media for Selective Enumeration of Streptococcus Thermophilus. Lactovacillus delbrueckii ssp, bulgaricus, Lactobacillus acidophilus, and Bifidobacteria. J Dairy Sci, 79:1529-1536.
- Bartosh S., Woodmansey EJ., Paterson JCM, McMurdo ET., Macfarlane GT 2005. Microbiological effects of Consuming a Synbiotic Containing Bifidobacterium bifidum, Bifidobacterium lactis, and Oligofructose in Elderly Persons, Determined by Real-Time Polymerase Chain Reaction and Counting of Viable Bacteria. Clinical Infectious Diseases 40: 28-37.
- Tilsala-Timisjarvi A., Alatosava T 1997. Development of oligonucleotide primers from the 16S-23S rRNA intergenic sequences for identifying different dairy and probiotic lactic acid bacteria by PCR. Inter J Food Microbiol 35: 49-56.
- Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (DSMZ), Germany
- Satokari RM, Vaughan EE, Akkermans ADL, Saarela M, De Vos WM 2001. Bifidobacterial diversity in human feces detected by genus-specific PCR and denaturing gradient gel electrophoresis. Appl Environ Microbiol 67:504-513.
- Muyzer G, Smalla K 1998. Application of denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) and temperature gradient gel electrophoresis (TGGE) in microbial ecology. Antonie Van Leeuwenhoek 73:127-141.
- Corrêa NBO, Peret Filho LA, Penna FJ, Lima FMLS, Nicoli JR 2005. A randomized formula controlled trial of Bifidobacterium lactis and Streptococcus thermophilus for prevention of antibiotic-associated diarrhea in infants. J Clin Gastroenterol 39:385-389.
- Saavedra JM., Abi-Hanna A., Moore N., Yolken RH 2004. Long-term consumption of infant formulas containing live probiotic bacteria: tolerance and safety. Am J Clin Nutr 79: 261-167.
- Szajewska H, Setty M, Mrukowicz J, Guandalini S 2006. Probiotics in Gastrointestinal diseases in children: Hard and not-so-hard evidence of efficacy. J Pediatr Gastroenterol Nutr 42:454-475.
- Costa-Ribeiro H, Ribeiro TC, Mattos AP, Alois SS, Neri DA, Almeida P, Cerqueira CM, Ramos E, Young RJ, Vanderhoof JA 2003. Limitations of probiotics therapy in acute, severe dehydrating diarrhea. J Pediatr Gastroenterol Nutr 36:112-115.

Recibido: 14-11-2007

Aceptado: 08-01-2008

## Prevalence of anemia and deficiencies of iron, folic acid and vitamin B<sub>12</sub> in an Indigenous community from the Venezuelan Amazon with a high incidence of malaria

*Maria Nieves García-Casal, Irene Leets, Carmen Bracho, Mariana Hidalgo, Gilberto Bastidas, Ana Gomez, Ana Peña, Hilda Pérez*

Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC), Centros de: Medicina Experimental y Microbiología y Biología Celular. Caracas, Venezuela. Hospital "José Gregorio Hernández" de Puerto Ayacucho, Amazonas, Venezuela

**SUMMARY.** The objective of this work was to determine the prevalence of anemia and deficiencies of iron, folic acid and vitamin B<sub>12</sub> in Betania del Topocho, a Piaroa community from Estado Amazonas, Venezuela, a zone with a high incidence of malaria. The group studied included 184 subjects of all ages that assisted to the local health center for malaria diagnosis. Analysis performed included hematology by coulter counter, ferritin quantification by ELISA with monoclonal antibodies and folic acid and vitamin B<sub>12</sub> determinations by an immunoradiometric assay. It was found that the prevalence of anemia was 89.6% and deficiencies of iron, folic acid and vitamin B<sub>12</sub> affected 37.1, 70.3 and 12.4% of the population studied, respectively. *Plasmodium* infection was detected by molecular diagnosis in 53.2% of the cases, and 86% of them were anemic. The highest incidence of anemia was found in children, with a prevalence of 100% in infants of both sexes. The high prevalence of anemia, iron and folic acid deficiencies found, indicates an important health and nutrition problem that should be immediately and properly addressed. The number of cases of anemia due to iron deficiency could be underestimated, since ferritin concentration increased as an acute phase protein, although prevalence data was also analyzed with a cutoff point of 30 µg/L for ferritin concentration.

**Key words:** Anemia, iron deficiency, folic acid, malaria, Indians.

**RESUMEN. Prevalencia de anemia y deficiencias de hierro, ácido fólico y vitamina B<sub>12</sub> en una comunidad indígena del Amazonas Venezolano con alta incidencia de malaria.** El objetivo de este trabajo fue estudiar la prevalencia de anemia y de las deficiencias de hierro, ácido fólico y vitamina B<sub>12</sub> en Betania del Topocho, población indígena de la etnia Piaroa, del Estado Amazonas, Venezuela, una zona con alta incidencia de malaria. Se estudiaron 184 sujetos de todas las edades que asistieron al Centro de salud para despistaje de malaria. Se realizó hematología completa por Coulter counter, la cuantificación de ferritina por ELISA con anticuerpos monoclonales, y la determinación de ácido fólico y vitamina B<sub>12</sub> séricas por un ensayo inmunoradiométrico. La prevalencia de anemia fue de 89.6% y las deficiencias de hierro, ácido fólico y vitamina B<sub>12</sub> afectaron 37.1, 70.3 y 12.4% de la población estudiada, respectivamente. La infección con *Plasmodium* fue detectada por diagnóstico molecular en el 53.2% de los casos, y 86% de ellos eran anémicos. La mayor incidencia de anemia fue encontrada en niños, con una prevalencia del 100% en lactantes de ambos sexos. La alta prevalencia de anemia y deficiencias de hierro y ácido fólico indican un problema de salud y de nutrición importante en esta comunidad que debe ser tratada de forma adecuada y urgente. Los casos de anemia debidos a deficiencia de hierro, podrían estar siendo subestimados, ya que la ferritina sérica es también una proteína de fase aguda que aumenta en caso de infección, aunque los datos de prevalencia fueron también analizados con un punto de corte de 30 µg/L para la concentración de ferritina.

**Palabras clave:** Anemia, deficiencia de hierro, ácido fólico, malaria, indígenas.

### INTRODUCTION

Anemia and iron deficiency constitute the most frequent nutritional problems worldwide. Some age groups are more vulnerable to suffer this deficiency, especially as a consequence of increased requirements and/or losses of the mineral. For this reason infants, preschoolers and pregnant and childbearing age women are more susceptible to iron deficiency (1,2). Folic acid is required for some vital functions such as the synthesis of nucleic acids, blood cells and neural tissue. Also, it has an important role in the synthesis of methionine and as a

precursor of SAM (S-adenosyl methionine), universal donor of methyl groups for more than 100 organic reactions (3,4). Folic acid deficiency is very prevalent in the world and some consequences of this deficiency include: macrocytic or megaloblastic anemia, increased incidence or severity of some types of cancer (5-7), neural tube defects (8,9), increased serum homocysteine levels and cardiovascular alterations (10-12). It has an important role in the synthesis of methionine and as a precursor of SAM (S-adenosyl methionine), universal donor of methyl groups for more than 100 organic reactions (3,4). Folic acid deficiency is very prevalent in the world and some

consequences of this deficiency include: macrocytic or megaloblastic anemia, increased incidence or severity of some types of cancer (5-7), neural tube defects (8,9), increased serum homocysteine levels and cardiovascular alterations (10-12).

On the other hand, Vitamin B<sub>12</sub> deficiency is less common and usually affects elderly people and strict vegetarians (3,13). Deficiency of this vitamin is recognized for its effect on hematopoietic and neural systems, causing an important impairment of DNA replication, producing irreversible neuropathy and discontinuous, diffuse and progressive nerve demyelination (14,15).

Nutritional information, and especially on prevalence of anemia and deficiencies of iron, folic acid and vitamin B<sub>12</sub>, is scarce in Indigenous populations living far from big cities. In Venezuela, this is valid even in some Indigenous communities partially or totally incorporated to the same level of development achieved in the rest of the country. That is the case of the Piaroa community studied in this work, which is located in close proximity to a populated center and has adapted to some urban costumes, while preserving some ancestral traditions and habits. The socioeconomic situation and the difficulties to access services associated with urban centers (i.e. year round supply of varied food sources), as well as religious or cultural practices, may act in some cases as factors that increase the probability of anemia, iron deficiency and in general, malnutrition.

The objective of this work was to determine the prevalence of anemia and deficiencies of iron, folic acid and vitamin B<sub>12</sub> in Betania del Topocho, a rural Piaroa community, located in close proximity to Puerto Ayacucho capital city of the Amazonas State in Venezuela. This is a region with a high prevalence of malaria.

## MATERIALS AND METHODS

According to the information provided by the Venezuelan National Institute of Statistics and based on projections from 2001 Venezuelan population census, the Amazonas State population during 2005 was 134,594 (16). The community studied named Betania del Topocho, belongs to the Atures Municipality and is located 50 kilometers north of Puerto Ayacucho, the capital city of the state. At the time of the study, the community consisted of 500 Piaroa individuals living in individual houses (one per family), which differ from the traditional communal house typical of the Piaroa people. The community has access to electricity and water services, markets, a rural medical facility attended by a nurse and one elementary school (17). The Piaroa ethnia represents approximately 3% of all indigenous population in Venezuela.

Sample collection was performed in the community medical facility and our research team was accompanied by a representative of the Ministry of Health who was collecting samples for malaria diagnosis. The sampling process was carried out during 3 consecutive days, and each individual, in-

cluding parents or guardians for children and adolescents under 18 years of age, was informed, using interpreters, about the objectives of the study. Each individual was informed that participation consisted in donating a blood sample to determine hemoglobin, ferritin, folic acid and vitamin B<sub>12</sub> concentrations and that the results would be informed to each participant. They were informed that data on gender, age, height and weight, was also required.

In the community studied most individuals speak only Piaroa and we contacted 2 members of the community who spoke Spanish and acted as interpreters. Information about the study was exchanged with participants, fluently and without problems.

The sample consisted in 208 individuals of both sexes and ages between 1 and 94 years, which represents 41.6% of the total population of the community, based on data from 2001 National Census. Sample was taken from all individuals that attended the medical facility because they knew about our presence in the community and consented to participate in the study. Since it was a self-selected sample, the age and gender distribution of the sample was compared against the indigenous communities of Amazonas State.

Blood samples were taken from the antecubital vein of the arm, after proper antisepsis, with alcohol and sterile cotton swabs. The content of the syringe was distributed in 2 tubes: with or without ethylene diamino tetra acetic acid (EDTA) as anticoagulant. Determinations of hemoglobin concentration were performed in a Coulter Counter in the Laboratory of the hospital "Jose Gregorio Hernández" at Puerto Ayacucho, the capital city of the State. Samples in tubes without anticoagulant were centrifuged 2 to 4 hours after collection, the serum was separated, aliquoted, and frozen at -20°C until use for serum iron (18), unsaturated iron binding capacity (UIBC) (19), total iron binding capacity (TIBC) (19), ferritin, folic acid and vitamin B<sub>12</sub> determinations.

Serum ferritin concentration was determined by an ELISA (Enzyme linked immunosorbent assay) (20), developed in our laboratory using monoclonal antibodies raised against human ferritin. Intra and inter-assay variation is 5 and 7%, respectively and the assay has been validated against International standards. Also, internal controls of known concentration (low, medium and high) are run in each plate.

Serum folic acid and vitamin B<sub>12</sub> determinations were performed in a sub sample by a radioimmunoassay from DPC (Diagnostic Product Corporation, Los Angeles, California) (21), which contains a high affinity folate-binding protein from milk to measure folic acid, and intrinsic factor purified from hog to measure vitamin B<sub>12</sub> by competitive binding. It is a radioactive method non susceptible to antibiotics and methotrexate that allows the simultaneous determination of folic acid and vitamin B<sub>12</sub> concentrations in serum, plasma or blood, which can be calculated from standard curves.

Anemia was diagnosed when hemoglobin concentration was < 11 g/L in children less than 4 years, <11.5 g/L in children 4 to 10.9 years, <12 g/L for all non-pregnant women older than 11 years of age, <11 g/L for pregnant women, <12.5 for boys 11 to 12.9 years and < 13 for men older than 13 years. The cutoff points used for iron deficiency were serum ferritin concentrations <10 µg/L for individuals less than 14 years old and <12 µg/L for the rest of the age groups. Since there was an important prevalence of malaria and infections in general, ferritin data was also analyzed using a cutoff point of 30 µg/L, as suggested by WHO (2).

The cutoff points used for serum folic acid were <3 ng/mL for severe deficiency, and 3 to 6 ng/mL for moderate deficiency. Vitamin B<sub>12</sub> deficiency was defined as serum concentration below 200 pg/mL, normality range varied from 200 to 900 pg/ml and excess >900 pg/mL (3, 21). Unless otherwise indicated, prevalence of folic acid deficiency refers to cases with severe and moderate deficiency, with a cutoff point <6 ng/ml.

Analyses of results were performed calculating the prevalence of anemia and deficiencies of iron, folic acid and vitamin B<sub>12</sub> separately and then correlating these deficiencies as causes of anemia, according to age and gender. ANOVA with Bonferroni as a post-test was used to compare differences in biochemical variables by age and gender.

## RESULTS

The population studied included subjects of all ages and gender that assisted to the community medical facility for diagnosis of malaria and consented to participate in the study. Since the sample was self-selected and we did not have access to the community age and gender distribution, the comparison was performed against the indigenous communities of Amazonas State. Regarding age, distribution was similar in both locations: 10.4 and 10.5% for 1-3 years old children, 29.7 and 24.1% for 4-10 years, 17.6 and 22.3 for 11-20 years, 28.6 and 28.0 for 21-40 years and 13.7 and 15.1% for 41 and more years, in the community and the State respectively. Gender distribution in the community presented a predominance in females and was different from the State: 58.8% females and 41.2% males for the community and 48.2% females and 51.8% males for the Amazonas State.

As shown in Table 1 the hematological evaluation of the whole group and classified by gender, revealed an anemic population with a mean hemoglobin concentration of 10.61 g/L. Biochemical parameters for measuring iron metabolism of the individuals, showed low levels for serum iron and transferrin saturation, as well as for UIBC and TIBC. Iron stores, measured by serum ferritin concentration, are slightly above the cutoff point for iron deficiency of 12 µg/L, being classified as a moderately iron deficient population. Also, serum folic acid levels revealed a moderately deficient population.

The only nutritional parameter evaluated that showed adequate serum levels at population level, was vitamin B<sub>12</sub>, with a mean concentration of 592.6 pg/mL, considerably above the cutoff point for deficiency of 200 pg/mL.

TABLE 1  
Anthropometrical and hematological characteristics of the Piaroa population of Betania del Topocho, Amazonas State, Venezuela. Distribution by gender

n	TOTAL 182	Female 107	Male 75
Age (years)	21.61±18.63	21.48±17.88	21.80±19.77
Weight (kg)	34.56±16.64	33.73±14.96	35.72±18.78
Height (cm)	131.60±24.20	129.57±20.78	134.39±28.24
Hemoglobin (g/L)	10.61±1.35	10.31±1.13	11.04±1.52
Hematocrit (%)	34.43±4.08	33.62±3.50	35.59±4.60
Serum Iron (µg/dL)	65.0±24.0	63.65±24.64	66.44±24.45
UIBC (µg/dL)	343±70	350±74	331±63
TIBC (µg/dL)	407±66	414±72	397±57
Transferrin saturation (%)	16±7	16±7	17±7
Ferritin (µg/L)	15±11	13±9	17±12
Folic Acid (ng/mL)	5.41±3.71	5.23±3.58	5.68±3.99
Vitamin B <sub>12</sub> (pg/mL)	592.6±374.2	569.9504.5	469.4±444.0

Population studied was classified by age and gender, showing that all groups presented borderline or deficiency values for hemoglobin, ferritin and folic acid.

Children in general, especially infants less than 3 years old, presented the lowest levels for hemoglobin and ferritin regardless of gender (Table 2). In the case of serum folic acid, deficiency is moderate in all groups older than 10 years of age of both sexes. In children, values registered were above the cutoff point of 6 ng/mL, except for girls between 1 and 3 years old, with a mean concentration of 4.51 ng/mL. The differences in all biochemical parameters studied, were not different statistically, between age and gender groups.

The prevalence of anemia and deficiencies of iron, folic acid and vitamin B<sub>12</sub> by age and gender is shown in Table 3. The highest prevalence of anemia was found in infants of both sexes, reaching 100%. Anemia affected the whole group studied, but was especially high in females of all ages, including women older than 40 years, with a prevalence of 80%. The prevalence of iron deficiency was also higher in females, affecting all ages studied. In males, iron deficiency was less prevalent than in women, and was higher in children below 3 years of age. Regarding folic acid and vitamin B<sub>12</sub> deficiencies, the highest prevalence was found in males for both nutrients. The prevalence of folic acid deficiency was high and affected all age groups, while vitamin B<sub>12</sub> deficiency was lower and less homogeneous in distribution, showing no cases of deficiency in women older than 40 years of age, probably due to a small sample size (n=52).

TABLE 2

Mean hemoglobin, ferritin and folic acid concentrations by age and gender in the Piara community of Betania del Topocho, Amazonas State, Venezuela

	Age (years)	n	Female		Male	
			Concentration	n	Concentration	n
Hemoglobin (g/L)	1-3	9	9.52± 0.72	10	9.57± 0.75	
	4-10	31	10.07± 0.66	23	10.24±0.80	
	11-20	20	10.06±1.65	12	11.33±1.38	
	21-40	32	10.72±0.91	20	12.23±1.49	
	41-+	15	10.71±1.37	10	11.57±1.31	
	TOTAL	107	10.31±1.14	75	11.04±1.51	
Ferritin (µg/L)	1-3	9	11.11±6.21	10	12.60±8.71	
	4-10	29	15.62±12.85	22	12.27±5.87	
	11-20	20	16.80±27.16	12	18.17±12.11	
	21-40	32	11.59±6.25	19	26.86±21.07	
	41-+	15	14.67±7.75	11	17.10± 9.73	
	TOTAL	105	13.33±9.35	74	17.21±11.76	
Folic Acid (ng/mL)	1-3	4	4.51±1.33	4	11.11±4.79	
	4-10	10	7.16±3.17	4	7.17±5.22	
	11-20	10	3.75±2.16	8	4.83±3.52	
	21-40	20	3.78±2.12	11	3.80±1.67	
	41-+	8	8.67±5.77	7	5.66±3.53	
	TOTAL	52	5.23±3.58	34	5.68±3.99	

Table 3 also shows the prevalence of anemia combined with iron and/or folic acid deficiency. It was found that 36% of the cases with anemia presented iron deficiency, while almost 60% of the severe or moderate folic acid deficient subjects, also presented anemia. The combination of anemia and iron deficiency was detected in 38% of folic acid deficient subjects.

The prevalence of iron deficiency increases to 92% when the cutoff point for iron deficiency is set in 30 µg/L. In this scenario, the prevalence of combined anemia and iron deficiency reached 93.3 % indicating that all anemia cases presented iron deficiency. For the combination of anemia, iron and folic acid deficiencies, the prevalence was 58.1%.

When the sample was analyzed as a whole, (Figure 1), there was high prevalence of anemia and folic acid deficiency (89.6 and 70.3%, respectively) with a moderate and atypical prevalence of iron deficiency (37.1%), and a low prevalence of vitamin B<sub>12</sub> deficiency (12.4%). When a cutoff point of 30 was used for ferritin concentration, iron deficiency reached 91.6% of prevalence. It was also found that 86% of the individuals with molecular diagnosis of malaria, presented anemia.

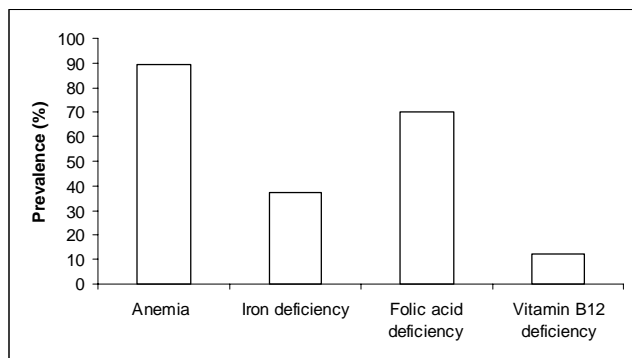
TABLA 3

Prevalence of anemia and deficiencies of iron, folic acid and vitamin B<sub>12</sub> and prevalence of combined anemia + iron deficiency or anemia+ iron deficiency+ folic acid deficiency in the Piara community of Betania del Topocho, Amazonas State, Venezuela. Distribution by age and gender

Gender and age (years)	Anemia	Iron deficiency	Folic acid deficiency	Vit B <sub>12</sub> deficiency	Anemia + Iron deficiency	Anemia + folic acid deficiency	Anemia + Iron deficiency + folic acid deficiency
Prevalence (%)							
FEMALE							
1-3	100	56	75	0	56	75	60
4-10	100	31	50	10	29	60	22
11-20	90	55	90	20	50	60	50
21-40	94	41	80	5	41	75	46
41-+	80	33	38	0	33	38	20
TOTAL	93.45	43.2	66.6	7.0	41.8	61.6	39.60
MALE							
1-3	100	50	75	25	50	25	0
4-10	91	36	50	0	35	50	13
11-20	83	25	88	22	17	75	50
21-40	65	26	100	9	25	73	60
41-+	90	18	57	33	20	43	50
TOTAL	85.80	31.08	74.0	17.8	29.4	53.2	36.80
TOTAL	89.63	37.10	70.3	12.4	35.6	57.4	38.2

FIGURE 1

Prevalence of anemia and deficiencies of iron, folic acid and vitamin B<sub>12</sub> in the Piaroa community of Betania del Topocho, Amazonas State, Venezuela. Distribution of total population studied<sup>1</sup>



<sup>1</sup> Cutoff points:

Anemia: hemoglobin < 11 g/L for children less than 4 years, < 11.5 g/L for boys and girls between 4 and 10.9 years, < 12 g/L for females from 14 years, < 12.5 g/L for males between 11 and 12.9 years and < 13 g/L for males from 13 years of age.

Iron deficiency. Serum ferritin < 10 µg/L for individual less than 14 years and < 12 µg/L for the rest of the population.

Folic acid deficiency : < 6 ng/ml

Vitamin B<sub>12</sub> deficiency: < 200 pg/ml.

## DISCUSSION

The study performed in this community showed a high prevalence of anemia and folic acid deficiency, that is evident not only by individual data but also by the mean levels obtained for the entire population. These low general mean values, indicate that the majority of the population studied is affected by these deficiencies, which requires an immediate and massive nutritional intervention.

The sample studied included individuals from all age groups, and although the individuals voluntarily included themselves in the study, they represented almost 50% of the community and had the same age distribution found for the indigenous community of the whole Amazonas State. Gender distribution however, showed an increase percentage of females compared to the state population, probably due to the interest of mothers to obtain malaria diagnoses for their children.

Prevalence of anemia reached values close to 90% for the total population and 100% for boys and girls with less than 3 years of age. For the last few years, data obtained in Venezuela and in other underdeveloped countries, seem to indicate that other factors, besides iron deficiency, could have a role in the reported prevalence of anemia (22). Results from this work show that anemia due to iron deficiency account only for 35.6% of the cases, with a total prevalence of anemia of 89.6%. These results were obtained with the cutoff points for normal popu-

lations, and it can be noticed that all iron deficient cases studied were anemic, although it is clear from the high prevalence of anemia registered, that there were other causes of anemia. The cases of anemia that could be due to folic acid deficiency reach 26.7%, using the cutoff of <3ng/ml for severe folic acid levels, or 57.4% with the cutoff of 6 ng/mL, for severe and moderate folic acid deficiency. With the first cutoff point, there is a 27.3% of anemia cases (to complete the total prevalence of 89.6%) due to other causes, different for iron and folic acid deficiencies, and could have a non-nutritional origin, while the more broad cutoff point, could explain the rest of the cases not produced by iron deficiency, although an important number of cases (38.2% of the anemic population) presented combined iron and folic acid deficiencies.

One problem to clarify the origin of the anemia is that ferritin is an acute phase protein, that is elevated in case of infections, and in this population the proportion of anemia produced by iron deficiency could be underestimated, since the diagnosis of iron deficiency was based only on ferritin concentration.

The fluctuating and relatively moderate prevalence of iron deficiency by age and gender, was probably due to the fact that ferritin was not only reflecting iron stores, but also the presence of infections in those individuals. It is possible that the difference found in this study between prevalence of anemia and iron deficiency was due to incidence of infections, especially malaria, with a direct effect not only on erythrocytes, but on serum ferritin concentration. As mentioned before, 53% of the population studied presented malaria infection and from this group, almost 90% was anemic. As a matter of fact, when the cutoff point for ferritin concentration was adjusted 30 µg/L, the prevalence of iron deficiency increased to 92% of the cases studied, and could explain all the cases of anemia reported. Also, the prevalence of combined anemia, iron and folic acid deficiencies increased to 58% indicating that combined or multiple deficiency of nutrients is the main problem in this population, along with infections.

It is interesting to highlight that the treatment for these populations is multifactorial: a treatment for the infectious process in a first phase and then begin the adequate feeding or the introduction of specific nutrients that are in deficit. The proper improvement in quality of life, education and access to services are also necessary.

The scarce reports on nutritional status in Indigenous populations in Venezuela, indicate that there is an important nutritional problem. A report on 97 preschool and scholar Piaroa children living in 9 Communities of Amazonas State, showed a prevalence of anemia of 80% and 48% in boys and girls, respectively (23). The study of a Yucpa Indigenous community in a western region of Venezuela (24), reported that the prevalence of anemia was 71% and in half of the cases, there was no iron, folic acid or vitamin B<sub>12</sub> deficiencies. The preva-

lence of iron deficiency anemia was 39%, similar to the prevalence found in the present study, and folate deficiency was 12.9%. The authors explain the presence of anemia without iron deficiency, to the incidence of infectious diseases such as hepatitis, parasitic, skin and gastrointestinal tract infections. In another study from the same authors (25) in 2 communities of Bari indians, they report a high prevalence of anemia not due to iron deficiency, attributing the results to nutritional deficiencies and high incidence of infections.

The high prevalence of malaria, anemia, iron and folic acid deficiency indicate a health and nutrition problem in this population, that should be properly and urgently addressed. Anemia incidence could be due to nutritional deficiencies of iron and folic acid, as well as to malaria. Anemia cases due to iron deficiency could be underestimated, since the biochemical indicator used to measure iron reserves (serum ferritin) is also an acute phase reactant that increases in cases of infection, although, as shown in this work, changing the cutoff point for this protein concentration, could help in obtaining a general idea of the magnitude of the problem.

#### ACKNOWLEDGMENT

Authors are grateful to the Community of Betania del Topocho from Amazonas State, Venezuela for their participation in the study, to Licentiate Irma Rodríguez and to the Centro Amazónico de Investigación y Control de Enfermedades Tropicales (CAICET) from Amazonas State, for their collaboration in sample collection and processing. We also thank Venezuelan Air Force for transportation during the study.

#### REFERENCES

1. International Anemia Consultative Group (INACG). Guidelines for the eradication of iron deficiency anaemia. A report of the International Nutritional Anaemia Consultative Group. Washington, DC: The Nutrition Foundation. 1977.
2. WHO-UNICEF. Indicators and strategies for iron deficiency and anaemia programs. World Health Organization Technical Report. September 1993.
3. ILSI-OPS. International Life Science Institute (ILSI), Pan American Health Organization (OPS). Ácido fólico y Vitamina B12. In: Conocimientos actuales sobre nutrición. Seventh Edition. Ziegler y Filer Eds. Washington DC, USA. p 235-263. 1997.
4. Machlin L, Hüni J. Vitamin A. Folic Acid. Vitamins, basics. Hoffmann-La Roche LTD. Basel Switzerland. pp 37-40, 49-51. 1994.
5. Giovanucci E, Stampfer M. Folate, methionine and alcohol intake and the risk of colorectal adenoma. *J Nat Cancer Inst.* 1993; 87: 895-904.
6. Woon Choi S, Friso S, Dolnikowski G, Bagley P, Edmonson A, Smith D, Mason J. Biochemical and molecular aberrations in the rat colon due to folate depletion are age-specific. *J Nutr.* 2003; 133: 1206-1212.
7. Woon Choi S, Mason J. Folate and carcinogenesis: an integrated scheme. *J Nutr.* 2000; 130: 129-132.
8. Czeizel A. Folic acid in the prevention of neural tube defects. *J Ped Gastroent.* 1995; 2: 4-16.
9. Medical Research Council. Prevention of neural tube defects: results of the Medical Research Council Vitamin Study. *Lancet* 1991; 338: 131-137.
10. Brattström L, Wilcken D. Homocysteine and cardiovascular disease: cause or effect? *Am J Clin Nutr.* 2000; 72: 315- 323.
11. McKinley M, McNulty H, McPartlin J, Strain J, Pentieva K, Ward M, Weir D, Scott J. Low-dose vitamin B6 effectively lowers fasting plasma homocysteine in healthy elderly persons who are folate and riboflavin replete. *Am J Clin Nutr.* 2001; 73: 759-764.
12. Stipanuk M. Folic acid, vitamin B12 and vitamin B6. In: Biochemical and physiological aspects of human nutrition. W.B Saunders Company. Philadelphia pp 483-518. 2000.
13. Hebert V. Staging vitamin B12 status in vegetarians. *Am J Clin Nutr.* 1994; 59(Suppl): 1213S- 1222S.
14. Allen L. Vitamin B12 metabolism and status during pregnancy, lactation and infancy. *Adv Exp Med Biol.* 1994; 352: 173-186.
15. Rodríguez G. Ácido fólico y vitamina B12 en la nutrición humana. *Rev Cub Alim Nutr.* 1998; 12(2):107-119.
16. Instituto Nacional de Estadística. Proyecciones del Censo 2001. <http://www.ine.gov.ve>. Information obtained in November 2006, and January 2008.
17. World Press. Informe de una dinámica de grupo con la cooperativa Ärümehä en la comunidad piaroa de Betania del Topocho, Estado Amazonas. 2005. <http://babilonia.thinkertothinker.com/>. Consulted on December 2006 and January 2008.
18. International Committee for Standardization in Hematology. Recommendation for measurement of serum iron in human blood. *Brit J Haematol.* 1978; 38:291-294.
19. International Committee for Standardization in Hematology. The measurement of total and saturated iron-binding capacity in serum. *Brit J Haematol.* 1978; 38: 281-290.
20. Flowers C, Kuizon M, Beard S, Skikne B, Covell A, Cook J. A serum ferritin assay for prevalence studies of iron deficiency. *Am J Hematol.* 1986; 23: 141-151.
21. DPC Diagnostic Product Corporation. Dualcount Solid Phase No Boil Assay for Vitamin B12 and Folic Acid. Brochure included with the kit. California USA. 1999.
22. Suárez T, Torrealba M, Villegas N, Osorio C, García-Casal MN. Deficiencias de hierro, ácido fólico y vitamina B12 en relación a anemia, en adolescentes de una zona con alta incidencia de malformaciones congénitas en Venezuela. *Arch Latinoam Nutr.* 2005; 55 (2): 118-123.
23. Hidalgo G. Vitamina A, anemia y antropometría nutricional en pre-escolares y escolares Piaroa, Estado Amazonas. (Vitamin A, anemia and nutritional anthropometrics in Piaroa preschoolers and scholars, Amazonas State). Thesis for Master in Nutrition from Universidad Simón Bolívar. Caracas, Venezuela pp 61-66. 2002.

24. Diez-Ewald M, Torres-Guerra E, Leets I, Layrisse M, Vizcaíno G, Arteaga M. Anemia en poblaciones indígenas del Occidente Venezolano. *Invest Clín.* 1999; 40 (3): 191-202.
25. Diez-Ewald M, Torres-Guerra E, Leets I, Layrisse M, Vizcaíno G, Arteaga M. Prevalencia de anemia y deficiencias de hierro, ácido fólico y vitamina B12 en 2 comunidades Bari al oeste de Venezuela. *Invest Clín.* 1997; 38 (4): 191-201.

Recibido: 01-11-2007

Aceptado: 17-01-2008

## Hábitos de alimentación y factores culturales en adolescentes embarazadas

Claudia Carolina Herrera-Suárez, Edgar M. Vásquez-Garibay, Enrique Romero-Velarde, Hiliana P. Romo-Huerta, Javier E. García De Alba García, Rogelio Troyo-Sanromán

Instituto de Nutrición Humana, Universidad de Guadalajara, Hospital Civil Dr. Juan I. Menchaca, Instituto Mexicano del Seguro Social. Guadalajara, Jalisco. México

**RESUMEN.** El propósito fue identificar hábitos de alimentación en adolescentes embarazadas y sus conceptos culturales con mayor influencia. Se estudiaron 54 sujetos de 12 a 19 años de edad de la ciudad de Guadalajara, se obtuvieron datos socioeconómicos, dietéticos, frecuencia de consumo de alimentos y se exploraron sus conceptos culturales en alimentación; con prueba chi cuadrado se estimó la asociación entre variables. El consumo de grasas fue bajo en adolescentes tardías vs. temprana/media 57 vs. 71 g/d ( $p = 0,05$ ), el de hierro, calcio y zinc fue deficiente en la etapa temprana/media, mientras que el de ácido fólico fue muy bajo en la etapa tardía. La tortilla de maíz fue el cereal y alimento más consumido (93-96%). Las frituras y refrescos (62 y 55%) prevalecieron en la etapa temprana/media. De las *costumbres* locales, los tacos, pozole y hamburguesas fueron los más referidos (74,1%). Refirieron perjudiciales a las grasas (36,7%), “comida chatarra” (30%), chile (26,7%), refrescos embotellados (23,3%), comidas preparadas (26,7%) y sal (10%). Creían que las verduras (77%), frutas (60%), leche (21%), caldos (17%) y carnes (12,5%) eran benéficos durante el embarazo. 96% consideraba que los caldos de pollo y de frijol eran nutritivos (*mito*) y que había alimentos prohibidos (*tabúes*) durante el embarazo: chile (48%), “producto” chatarra (20%) y sal (16%). El *prejuicio* fue más común en adolescentes tardías (60,9%) ( $p = 0,03$ ). Los hábitos de alimentación erráticos y la confusión conceptual propician una ingestión baja de nutrimentos y colocan a estas adolescentes embarazadas en riesgo nutricional.

**Palabras clave:** Adolescente, embarazo, alimentación, cultura alimentaria.

### INTRODUCCION

La adolescencia es un período de transición entre la infancia y la adultez donde ocurren profundos cambios biológicos, psicológicos y socioculturales destinados al logro de la madurez de los seres humanos (1-5).

Cuando la adolescente se embaraza antes de alcanzar la madurez fisiológica, es decir, en los cuatro años posteriores a la menarca (6), se expone a un riesgo de origen nutricional debido a que sobre las necesidades nutrimentales inherentes a la adolescente, aún en proceso de crecimiento biológico, se imponen las necesidades nutrimentales de su producto en gestación (7-9). Con frecuencia no observan hábitos alimenticios

**SUMMARY. Food habits and culture factors in pregnant adolescents.** The purpose of this study was to identify the food habits of pregnant adolescents and their perception about which, of her cultural concepts, have higher influence. 54 subjects between 12 and 19 years old from Guadalajara City were included and socioeconomic, dietetic data, as food frequency consumption and cultural concepts about feeding were also explored. Chi square was used for identifying association between variables. The fat intake was lower in late vs. Early and middle stage of adolescence (57 vs. 71 g/d,  $p = 0.05$ ). The iron, calcium and zinc intake was also deficient in the early/middle stage; meanwhile, the folic acid consumption was very low in the late stage of adolescence. Corn tortillas were the most consumed cereal and food (93-96%); junk food and sodas (62 and 55%) prevailed in the early/middle stage. About local *costumes*, “tacos”, “pozole” and burgers were the most referred (74,1%). They also mentioned that fat (36,7%), junk food (30%), chili (26,7%), sodas (23,3%), processed meals (26,7%) and salt (10%) were harmful. They also believed that vegetables (77%), fruits (60%), milk (21%), broths (17%), and meat (12,5%) were beneficial; and, 96% considered that chicken and bean broths were nutritious (myth). There were some prohibited foods (taboos) during pregnancy: chili (48%), junk food (20%), and salt (16%). Prejudices were more common among later adolescents (60,9%) ( $p = 0.03$ ). The erratic food habits and the conceptual confusion of these adolescents cause a low intake of nutrients and place them in a nutritional risk.

**Key words.** Adolescents, pregnancy, feeding, food culture.

adecuados. Aspectos como la diversidad de actividades, la búsqueda de identidad y aceptación social y una creciente preocupación por su aspecto, propician que sus hábitos se vuelvan erráticos, eliminan comidas regulares, ingieran una gran proporción de alimentos entre comidas y no es raro que omitan comidas en sus hogares (10-12).

Se ha reportado que las adolescentes tienen dietas que no proveen en cantidades suficientes nutrientes que necesitan para asegurar su salud y la de su hijo. Así, los aportes de energía, hierro, zinc, calcio, folato, magnesio y vitaminas como D, E y B6 son inadecuados (13-17).

Otro aspecto que determina sus hábitos de alimentación es la cultura. Su concepto es complejo y desde el punto de

vista de su influencia sobre los hábitos de alimentación ha sido poco explorado. La antropología ha sido la ciencia que, en forma sistemática, se ha acercado más a la investigación y comprensión de la díada cultura-hábito de alimentación, aunque no ha profundizado suficientemente sobre las implicaciones nutricias que tiene esta díada sobre los diferentes grupos de población (18,19).

Los antropólogos han enfatizado que, siendo todos los individuos miembros de una cultura y la cultura una guía aprendida de comportamientos aceptables, los modos de alimentación deben ser necesariamente influidos por la cultura. Por modos de alimentarse (cultura alimentaria) se entiende a los hábitos alimentarios de una cultura en particular, incluyendo sus preferencias y aversiones, así como a las prácticas en torno a la adquisición, distribución, preparación y consumo de alimentos (18).

La alimentación de las adolescentes embarazadas se encuentra inmersa en la gran diversidad cultural de la población mexicana; y desde luego, la cultura alimentaria comparte esta diversidad. Por tanto, es necesario partir de ciertos conceptos que nos faciliten el abordaje y la comprensión de los factores culturales que inciden sobre los hábitos de alimentación de este grupo vulnerable a la mala nutrición (5,20). De hecho, algunos de estos conceptos tienden a ser confundidos por la población y convendría tratar de definirlos para identificarlos de manera adecuada.

**Costumbre.** Significa la “expresión colectiva que forma parte de la cultura local”.

De tal manera que el término costumbre se reserva para lo social y hábito para lo individual (21). **Mito.** Es un conjunto de ideas creadas por la imaginación que no tiene realidad concreta. Se trata de propiedades benéficas atribuidas a ciertos alimentos cuando en realidad éstos no los poseen (22). **Prejuicio.** Es una opinión preconcebida. Supone que ciertas sustancias se aceptan o rechazan como alimento principalmente debido a las consecuencias anticipadas de su ingestión (23). **Tabú.** Es la restricción que limita el uso de alimentos que son considerados como prohibidos (22, 24). **Tradición.** Se refiere a la continuidad de ideas y costumbres en la vida de los pueblos (25). **Creencia.** Implica cualquier expresión o proposición simple consciente o inconsciente de lo que una persona dice o hace en relación con los alimentos (24).

El objetivo de este reporte es comunicar sobre los hábitos de alimentación de un grupo de adolescentes embarazadas y su percepción en relación a los conceptos culturales que influyen en ellos.

## MATERIAL Y METODOS

En un estudio descriptivo y transversal se incluyeron 54 adolescentes embarazadas de 12 a 19 años de edad que acudieron a la consulta externa de Obstetricia del Hospital Civil

de Guadalajara “Dr. Juan I. Menchaca” en el primer trimestre de 2005. Todas eran sanas, en cualquier momento del embarazo y sin patología agregada. El cálculo de la muestra consideró la siguiente ecuación  $n = (Z_{1-\alpha} + Z_{1-\beta})^2 \cdot P_0(1 - P_0) / \delta^2$  con error alfa en 0,05, error beta en 0,10 y distancia aceptada de la verdadera prevalencia de déficit en 0,2. El muestreo fue propositivo, no aleatorio y centrado en sitios de concentración de los sujetos de estudio.

Se estratificaron las adolescentes en tres etapas: temprana (10 a 13 años); media (14 a 16 años) y tardía 17 a 19 años de edad, se incluyeron además, datos socio-económicos y educacionales. Se identificaron conceptos que forman parte de la cultura de la comunidad y que fueron expresados de manera diferenciada: costumbre, creencia, mito, tabú, prejuicio, tradición. Para este efecto se aplicó un cuestionario con preguntas de fácil comprensión, que atendieran a cada uno de los conceptos señalados; las respuestas dicotómicas (sí/no, cierto/falso) y en pocos casos la pregunta fue abierta. Se evaluaron los hábitos de alimentación y nutrimentos consumidos mediante encuestas dietéticas por recordatorio de 24 h (EDR-24 h) y frecuencia de consumo de alimentos (FCA). Los datos recabados en la EDR-24hr fueron procesados con el paquete estadístico Mex-food<sup>1</sup> y los de FCA se procesaron con SNUT<sup>2</sup>.

Se estimaron estadísticas descriptivas y cuando fue pertinente se identificó la asociación entre variables con la prueba chi cuadrado y se estimó la razón de momios con intervalos de confianza (95%) para identificar su significado epidemiológico. Los datos se capturaron y analizaron con el programa estadístico SPSS versión 10.

El estudio fue aprobado por el Comité de Bioética con registro en la Dirección de Desarrollo en Salud de la Secretaría de Salud de Jalisco (562/05) y se obtuvo el consentimiento informado de la adolescente embarazada o de su representante legalmente autorizado (2).

## RESULTADOS

La edad promedio fue de  $16,3 \pm 1,6$  años con límites entre 12 y 19. La mayoría de las adolescentes en etapa temprana/media (69%) vivían con sus padres en familias nucleares, ampliadas o compuestas. Por el contrario, 68% de las adolescentes tardías vivían en familias de tipo varilocal, es decir, en familias de los padres de la pareja [OR 4,44 (1, - 16,5),  $p = 0,01$ ]. Fue más común que las adolescentes tardías trabajaran fuera de casa (24%) que las adolescentes en etapa temprana/

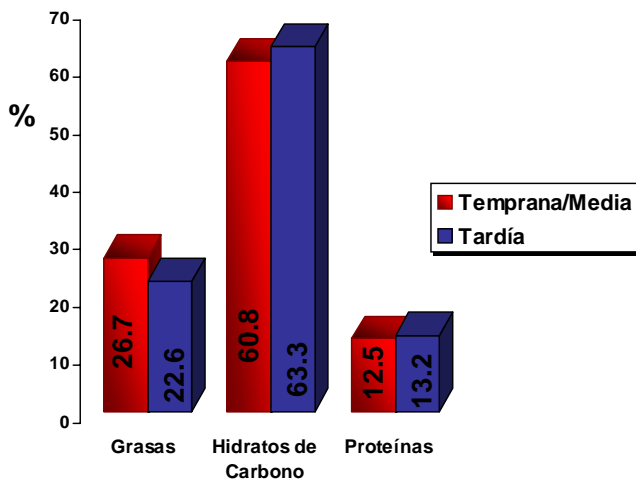
<sup>1</sup> Tablas de los alimentos de mayor consumo en México, 1997.

<sup>2</sup> Sistema de evaluación de hábitos nutricionales y consumo de alimentos, 2003.

media (7%) ( $p = 0,07$ ) y más probable que las adolescentes en etapa tardía estuvieran casadas y/o en unión libre (80%) que en la etapa temprana/media (52%) [RM 3,73 (0,96,-15,30),  $p = 0,059$ ] Los padres y madres de las adolescentes eran relativamente jóvenes. Destaca el antecedente de una madre adolescente en 70% de las adolescentes embarazadas estudiadas. Un alto porcentaje de padres y madres tenían escolaridad máxima de primaria. El ingreso económico de los padres fue 3,7 salarios mínimos (equivalente a \$550,00 dólares americanos) y el de las madres 2,4 salarios mínimos. Las adolescentes consumían cuatro tiempos de comida. El promedio de ingestión de energía fue de 2395 Kcal. y 2273 Kcal. en adolescentes tempranas/media y tardías respectivamente. La distribución energética de los macro nutrientes fue similar en proteínas (12,5%) e hidratos de carbono (61%). El consumo de grasas fue mayor en la etapa temprana/media (71 g) vs. etapa tardía (57g) ( $p = 0,05$ ). La ingestión de ácido fólico fue extremadamente baja (27%) en la etapa tardía y muy baja (50%) en la etapa temprana/media, DRI's<sup>3</sup>, Figura 1. La ingestión de hierro fue mayor en la etapa tardía (22 vs. 16 mg/d  $p = 0,02$ ), la de calcio y zinc también fueron deficientes, sobretodo en la etapa temprana/media, Figura 2.

FIGURA 1

Porcentaje de consumo de macro nutrientes. Se observa un mayor consumo de grasas en adolescentes tempranas/medias vs. Tardías ( $p = 0,05$ )

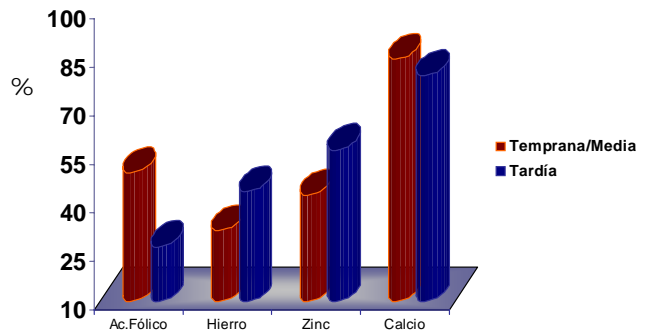


El consumo de leche entera, yogur y derivados lácteos fue común en 72 y 88% de las adolescentes en la etapa temprana/media y tardía respectivamente (mínimo una vez al día). La frecuencia de consumo de plátano, manzana, naranja, mango y mandarina fue cuando menos una vez al día. El consumo de naranja fue mayor en adolescentes de la etapa temprana/media y el consumo de pera fue mayor en la etapa tardía ( $p = 0,03$ ). El consumo de huevos, carnes y embutidos fue menos común. Predominaron el huevo de gallina, la carne de res,

pollo y jamón. Pocas adolescentes los consumieron una vez al día. Sorpresivamente, el consumo de barbacoa fue más común en adolescentes de la etapa temprana/media ( $p = 0,018$ ). Las salsas picantes eran habituales (mínimo una vez al día) en 65% y 52% en adolescentes en etapas temprana/media y tardías respectivamente. Las verduras más consumidas (1-6 veces al día) fueron el tomate, la papa, zanahoria, calabacita, lechuga y el elote. El consumo de zanahoria fue menor en adolescentes tardías ( $p = 0,01$ ). Una de cada dos adolescentes de ambos grupos consumían leguminosas con regularidad, sobretodo los frijoles. Entre 93% y 96% consumía tortilla de maíz mínimo una vez al día. Un porcentaje importante consumía pan dulce todos los días o varias veces por semana. El consumo de frituras procesadas fue relativamente común (50%) y 55% de las adolescentes en etapa temprana/media consumía refrescos embotellados mínimo una vez al día, sobretodo refrescos de cola. Entre 68% y 79% de las adolescentes consumían agua de frutas endulzadas, mínimo una vez al día Tablas 1 y 2.

FIGURA 2

Porcentaje de adecuación de la ingestión de vitaminas y nutrientes inorgánicos. Se observa un menor consumo de hierro en adolescentes tempranas/medias vs. Tardías ( $p = 0,02$ )



Según las adolescentes embarazadas y de acuerdo a las *costumbres* del lugar donde residen (hogar y vecindario) mencionaron 60 diferentes alimentos. Los tacos, pozole<sup>4</sup> y hamburguesas fueron referidos en primer lugar (74,1%), Tabla 3. Se les preguntó si acostumbraban consumir alguno de los alimentos antes mencionados a lo que 46 (85%) respondieron afirmativamente, 4 (7%) lo negaron y 4 (7%) no respondieron. En relación a tiempos de alimentación se les preguntó en cual de éstos consumían mayor cantidad de alimentos y 44 (81,5%) respondieron que en la comida (entre las 2 a 4 p.m.). La razón de porqué comían más en dicho tiempo fue porque “tenían más hambre” (87%).

<sup>3</sup>. Dietary Reference Intakes 2001.

<sup>4</sup> Platillo caldoso a base de maíz cocido, carne de cerdo, hortalizas (lechuga y rábano), limón y salsa picante.

TABLA 1

Porcentaje de alimentos de mayor consumo en adolescentes tempranas/medias (n = 29)

Alimento	Mínimo 1/d		Alimento	1-6/ sem	
	N	%		n	%
Tortilla de maíz	27	93	Bolsa de frituras	18	62
Agua de sabor	23	79	Arroz	17	59
Salsa picante	19	65	Sopa de pasta	16	55
Leche entera	18	62	Otro cereal	15	52
Refrescos	16	55	Pan dulce	14	48
Mango	14	48	Tomate guisado	14	48
Mandarina	14	48	Carne de res	14	48
Aceite de maíz	14	48	Huevo de gallina	14	48
Plato de frijol	13	45	Papa o camote	13	45
Naranja	10	34	Zanahoria	13	45
plátano	8	27	Bolillo	13	45
			Plato de frijol	12	41

TABLA 2

Porcentaje de alimentos de mayor consumo en adolescentes tardías (n = 25)

Alimento	Mínimo 1/día		Alimento	1-6 / semana	
	N	%		n	%
Tortilla de maíz	24	96	Carne de res	15	60
Agua de fruta	17	68	Tomate guisado	15	60
Leche entera	14	56	Huevo de gallina	14	56
Aceite de maíz	14	56	Pan dulce	13	52
Salsa picante	13	52	Bolsa de frituras	12	48
Plato de frijol	12	48	Plátano	12	48
Mango	9	36	Mango	12	48
Yogur	8	32	Plato de frijol	11	44
Pan dulce	7	28	Crema	11	44
plátano	6	24	Bolillo	10	40
			Pieza de pollo	10	40
			Sopa de pasta	10	40
			Lechuga	10	40

TABLA 3

Alimentos más consumidos por *costumbre* (n = 54)

Alimento	N	Proporción
Tacos	15	0,28
Pozole	14	0,26
Hamburguesas	11	0,20
Frijoles	9	0,17
Carne (cerdo/res)	6	0,11
Enchiladas	5	0,09
Huevo	5	0,09
Bistec	4	0,07
Lonches	4	0,07
Tortas ahogadas	4	0,07

En relación a las *creencias*, 96% de las adolescentes creían que los alimentos preparados en casa eran más nutritivos que los procesados. Asimismo, creían que hay ciertos alimentos que son perjudiciales para el embarazo. Entre los más perjudiciales mencionaron seis: grasas (36,7%), “producto” chatarra (30%), chile (26,7%), refrescos embotellados (23,3%), comidas preparadas (26,7%) y sal (10%), Tabla 4. En 89% de los casos, las adolescentes creían que había ciertos alimentos que son benéficos para el embarazo. Entre los más mencionados fueron: verduras (77%), frutas (60%), leche (21%), caldos (17%) y carnes (12,5%). La mayoría consideraba que el desayuno era el tiempo de alimentación más importante (54%), la comida ocupó el segundo lugar (33%) y un porcentaje menor (7%) consideró que los tres tiempos de comida eran igualmente importantes.

TABLA 4

Creencia de alimentos perjudiciales para el embarazo (n = 30)

Alimentos	N	Proporción
Grasas	11	0,37
Comida chatarra	9	0,30
Chile	8	0,27
Refrescos	7	0,23
Comidas preparadas	5	0,17
Sal	3	0,10
Carne de cerdo	2	0,07
Café	2	0,07
Pan	1	0,03
Mantequilla	1	0,03
Limón	1	0,03
Pasta	1	0,03
Dulces	1	0,03
Harina	1	0,03
Galletas	1	0,03
Comidas Light	1	0,03

Para explorar los *mitos* se incluyeron seis preguntas y las respuestas afirmativas fueron las siguientes: “la carne roja forma más músculo y contribuye a aumentar la fuerza muscular” 20,7% de adolescentes tempranas/medias y 36% de las tardías; “las espinacas aumentan la fuerza muscular”, alrededor de 70% de ambos grupos de adolescentes contestó que era cierto. “Los caldos de pollo y frijoles son muy nutritivos” (96%). “El atole y champurrado contribuyen a producir leche humana de mayor calidad en la madre”, la respuesta fue afirmativa en 65% de adolescentes tempranas / media y 40% de tardías.

Respecto a los *tabúes*, un porcentaje importante (46%) de las adolescentes consideraban que existían alimentos prohibidos durante el embarazo. Mencionaron tres alimentos: chile (48%), comida chatarra (20%) y sal (16%). Otros

alimentos que según ellas deben prohibirse durante el embarazo fueron: carne de cerdo, sandía, café, grasas, limón y refrescos, Tabla 5. Las principales razones de prohibirlos fueron: “porque hacen daño al bebé”, “se hinchan las manos y pies”, “irritan el estómago del bebé”, “no nutren y engordan”.

TABLA 5  
Tabúes (alimentos prohibidos) durante el embarazo  
(n = 25)

Alimento	N	Proporción
Chile	12	0,48
Comida chatarra	5	0,20
Sal	4	0,16
Carne de cerdo	3	0,12
Sandía	3	0,12
Café	2	0,08
Grasas	2	0,08
Limón	2	0,08
Refresco	2	0,08
Comidas instantáneas	1	0,04
Alimentos Light	1	0,04
Embutidos	1	0,04
Hamburguesas	1	0,04
Hot dog	1	0,04
Tacos	1	0,04

El *prejuicio* fue mas común en adolescentes de la etapa tardía (60.9%) en relación a las adolescentes tempranas/medias (20,7%), Tabla 6. En 37% de los casos, las adolescentes respondieron que había alimentos que podrían enfermarlas durante el embarazo. Cuando se les preguntó cuáles eran estos alimentos, 16 tuvieron las mayores menciones, sin embargo, los dos alimentos más mencionados fueron carne de cerdo y chile, ambos con 25%.

TABLA 6  
Prejuicio de alimentos que pueden enfermar durante el embarazo (n = 52)

Prejuicio	Etapa de la adolescencia				Total
	Temprana/media		Tardía		
	N	%	N	%	
No	23	79,3	9	39,1	32
Si	6	20,7	14	60,9	20
Total	29	100	23	100	52

La frecuencia de prejuicios respecto al consumo de ciertos alimentos fue más común en adolescentes tardías, [RM 5,96 (1,5 – 24,97) p = 0,03]

A las adolescentes estudiadas se les preguntó si en su comunidad existían alimentos *tradicionales* y 70,4% de las adolescentes respondieron afirmativamente. El pozole fue el alimento con más menciones (63,3%), enseguida y con la misma frecuencia el mole, los tamales y las tortas ahogadas (21,1%). También fueron mencionados con frecuencia aunque menor, los tacos, la birria, enchiladas y sopes (10,5 a 13%), Tabla 7.

También se les preguntó si conocían alguna *tradición* de la comunidad. A pesar de que todas las adolescentes respondieron afirmativamente, 24,1% respondieron que en ese momento no recordaban alguna tradición en particular, en tanto que 20.4% respondieron que las fiestas patronales eran una *tradición*. También se preguntó si practicaban alguna de estas tradiciones y 33 (66,7%) respondieron afirmativamente; mencionaron que las llevaban a cabo porque les habían sido inculcadas en la familia.

TABLA 7  
Alimentos tradicionales según las adolescentes embarazadas  
(n = 38)

Alimento	N	Proporción
Pozole	24	0,63
Mole	8	0,21
Tamales	8	0,21
Tortas ahogadas	8	0,21
Tacos	5	0,13
Birria	4	0,10
Enchiladas	4	0,10
Sopes	4	0,10
Capirotada	2	0,05
Chilaquiles	2	0,05
Chiles rellenos	2	0,05
Frijoles	2	0,05
Menudo	2	0,05
Pollo	2	0,05
Atole	1	0,03
Buñuelos	1	0,03
Chocolate	1	0,03
Fruta de temporada	1	0,03
Gorditas	1	0,03
Mariscos	1	0,03
Nopales	1	0,03
Pan de muerto	1	0,03
Pavo	1	0,03
Pescado	1	0,03
Rosca de reyes	1	0,03
Sopa de arroz	1	0,03

## DISCUSION

La estratificación conformada en etapas temprana/media y tardías de las adolescentes embarazadas permitió identificar asociaciones significativas y un carácter diferenciado entre los dos grupos. El hecho de que un gran número de adolescentes embarazadas estuviera ya casada o en unión libre, 80% en la etapa tardía, plantearía un riesgo nutricio mayor de la díada madre-hijo considerando su inmadurez biológica, psicológica y emocional y la carga impositiva de responsabilidades de todo tipo para las que no estarían preparadas. De los rasgos socio-demográficos se ha destacado que 70% de las adolescentes procedía del embarazo de una madre adolescente. Esto hallazgo supone cierto patrón de conducta familiar de embarazos prematuros (26,27) y tendría profundas implicaciones socio-antropológicas que requieren ser consideradas en otros estudios. Los embarazos se presentaron en un porcentaje mayor (40%), en hijas de madres que trabajaban fuera de los hogares pertenecientes a un estrato social bajo en donde es más común que la madre se dedique al hogar (~80%). Esto podría significar que hijas de madres que trabajan fuera del hogar tendrían mayor riesgo de presentar un embarazo no deseado ni planeado y enfatizaría la necesidad de buscar mecanismos de mayor comunicación madre-hija y prevenir la posibilidad de un riesgo de embarazo.

La EDR-24h muestra una tendencia al consumo bajo de grasas, particularmente en adolescentes tardías. La mayoría de las adolescentes consumían derivados lácteos con frecuencia lo cual teóricamente aseguraría un aporte significativo de proteínas de alto valor biológico y calcio. Las frutas eran consumidas con cierta frecuencia de 1 a 6 veces por semana. Llamó la atención el consumo elevado de salsas picantes, incluso mayor que otras verduras, lo cual no sería inadecuado por el alto contenido de vitamina C en el chile, sin embargo, el consumo de estos alimentos parece tener una fuerte implicación cultural. Los cereales como el bolillo, las pastas, el pan dulce y sobretodo la tortilla de maíz, formaban parte importante de la dieta de estas adolescentes. Aunque el estudio es puntual da una idea de que este cereal tiene mucho arraigo incluso en las generaciones más jóvenes.

El consumo de ácido fólico fue bajo y representó sólo 57% y 27% de las IDR's en adolescentes de la etapa temprana/media y tardía respectivamente. Es un hallazgo inquietante porque la deficiencia en el consumo de ácido fólico representa un riesgo de provocar defectos del tubo neural en los productos en gestación (14,28-30). La ingestión de hierro fue significativamente más baja en adolescentes temprana/media, la cual solo cubrió 57% de la ingestión dietética sugerida, mientras que en adolescentes tardías se cubrió 78%; esto muestra el riesgo significativo de anemia por deficiencia de hierro en adolescentes (31). La ingestión de calcio representó 80% de la ingestión recomendada. Este hallazgo sugeriría un

riesgo de descalcificación ósea de la futura madre con consecuencias inmediatas en su propio crecimiento físico no terminado aún y una inadecuada osificación y a largo plazo el riesgo de osteoporosis (9,17).

Como en estudios previos, (32,33) el consumo de frituras procesadas con alto contenido de hidratos de carbono, grasas saturadas, saborizantes, colorantes y de refrescos embotellados, fue un rasgo común en una de cada dos adolescentes independientemente de que ellas mismas los consideraran dañinos. Este hábito de alimentación emergente en las recientes décadas en México sería el resultado de la extraordinaria campaña mercadotécnica de gran penetración que estimula el consumo de estos productos chatarra en todos los estratos sociales del país (34). El asunto no es de menor importancia si consideramos que las adolescentes embarazadas representan un grupo vulnerable a la mala nutrición tanto por su estado puberal como por la presencia de un producto en gestación, ambos en un riesgo de mala nutrición por el consumo de estos productos en sustitución de otros alimentos de mayor valor nutrimental. Particularmente los refrescos de cola, que fueron los más consumidos, podrían afectar la absorción de calcio o aumentar su excreción urinaria por su alto contenido de fósforo (35).

Se confirmó que los hábitos de alimentación suelen ser precarios e inadecuados con un riesgo potencial de ingestión deficitaria en varias vitaminas, nutrimentos inorgánicos y probablemente ácidos grasos poli-insaturados. Por tanto, es imprescindible que las autoridades del Sector Salud refuercen las medidas de prevención de embarazos no deseados ni planeados y desarrollen programas, que de manera efectiva, fortalezcan hábitos sanos y adecuados de alimentación una vez que la adolescente se ha embarazado.

Fue complejo identificar y definir conceptos relativos a los factores culturales que tienen influencia sobre los hábitos de alimentación y partir del supuesto de que las adolescentes estudiadas serían capaces de reconocer cada uno de los conceptos referidos. En relación al concepto *costumbre* (21), llamó la atención que tacos, pozole y hamburguesas fueron los alimentos que más acostumbran en la comunidad donde vivían. Pareció una contradicción que las adolescentes señalaran la *costumbre* de consumir más alimentos en el tiempo de la comida a pesar de considerar al desayuno como el tiempo de alimentación más importante, por lo que al parecer no fue la costumbre sino el hambre la razón del mayor consumo en el tiempo de la comida.

Otro hallazgo contradictorio se refiere a la *creencia* (24) de que entre los seis alimentos que las adolescentes consideran perjudiciales, se encuentran los productos chatarra, el chile y los refrescos embotellados; alimentos que paradójicamente fueron los más consumidos por ellas, en especial el chile y salsas picantes. En general, entre las adolescentes, las frutas, verduras, leche, caldos y carne se encuentran entre los

alimentos considerados benéficos por las adolescentes.

Los *mitos* (22), fueron conceptos culturales donde se observó con más claridad la frecuencia de ideas infundadas y pobremente documentadas. Por ejemplo, que las espinacas aumentan la fuerza muscular, que la carne roja forma más músculo o que las verduras aportan proteínas y de manera más preocupante, que los caldos de frijoles y pollo son nutritivos. Estos son *mitos* (22) profundamente arraigados en nuestra población desde hace ya muchos años y han sido difíciles de erradicar debido a que han pasado de generación en generación. En especial la *costumbre* arraigada de utilizar los caldos en la alimentación de niños muy pequeños como sustitutos de la leche humana o de otros alimentos complementarios con mayor valor nutrimental. Entre las madres mexicanas perdura la idea errónea de que el atole es útil para aumentar la producción y la calidad de la leche humana en las primeras semanas de lactancia, *mito* muy arraigado y que como se observó, persiste en las adolescentes estudiadas.

En relación a los *tabúes* (22, 24), hubo dudas entre las adolescentes para identificarlos y solo un porcentaje menor encontraron algunos alimentos prohibidos. Coincidentemente con los otros factores culturales estudiados, el chile, productos chatarra y refrescos embotellados fueron los más mencionados. Esto haría suponer que existe un traslape de conceptos culturales de los *tabúes*, con las *creencias*, *prejuicios*, *costumbres*. etc. Cabe la posibilidad de que otros aspectos no explorados como sentimiento de culpa, temor a engordar y conceptos mágicos estén el fondo de estas apreciaciones.

El concepto de *prejuicio* (23) aparentemente también fue poco claro para las adolescentes. Este factor cultural tuvo un carácter mas diferenciado entre adolescentes tempranas/ medias vs. Tardías, pues la frecuencia de *prejuicios* fue mayor en el último grupo. De nuevo el chile fue uno de los alimentos mas mencionados como causante de enfermedad. El concepto de *tradicición* (25) fue mas claro para las adolescentes respondiendo afirmativamente un elevado porcentaje sobre alimentos tradicionales. Confirmándose que el pozole es considerado como el más tradicional. El mole, tamales y tortas ahogadas fueron también fácilmente identificados por las adolescentes. Es un hallazgo reconfortante que invita a reforzar las tradiciones de alimentación saludables.

### AGRADECIMIENTOS

Deseamos manifestar nuestro profundo agradecimiento al personal de enfermería y trabajo social de la Clínica de la Adolescente Embarazada por su apoyo logístico y en el reclutamiento de las adolescentes para el estudio.

### REFERENCIAS

1. Velarde JE, Ávila FC. Evaluación de la calidad de vida en el adolescente con enfermedad crónica. Bol Med Hosp Infant Mex. 2001; 58: 399-408.
2. Martínez y Martínez R, Cuevas A, Apodaca JJ, Sanz MR. Etapa adolescencia, crecimiento y desarrollo. En: Martínez y Martínez R, Ed. La salud del niño y del adolescente. 4ª Edición. México: Manual moderno; 2001: p 1431-47.
3. Ibarra-Colado J, Calderón MM, Rivas ME. Mortalidad prenatal, prematuridad y peso bajo al nacimiento en el embarazo de la mujer adolescente en un hospital general. Bol Med Hosp. Infant Mex 2002; 59: 706-12.
4. Molina CR, Molina GT, González AE. Madres niñas-adolescentes de 14 años y menos. Un grave problema de salud pública no resuelto en Chile. Rev. Med. Chile 2007; 135: 79-86.
5. Peña E, Sánchez A, Solano L. Perfil de riesgo nutricional en la adolescente embarazada. Arch Latinoamer Nutr 2003; 53 (2):141-49.
6. Romero MI, Maddaleno M, Silber TJ, Munist M. Salud reproductiva. Embarazo en la adolescencia. En: Silber TJ, Munist M, Maddaleno M, Suárez OE editores. Manual de medicina de la adolescencia. Washington, DC: OPS/OMS; 1992: p. 473-82.
7. Cedillo NS, Dellán JE, Toro MJ. Estado nutricional de las adolescentes embarazadas: relación con el crecimiento fetal. Rev Obstet Ginecol Venez 2006; 66 (4): 233-40.
8. Wrieden WL, Simón A. The development and pilot of a nutrition education intervention programme for pregnant teenage women. J Hum Diet 2003; 16(2): 67-71.
9. Lenders CM, McElrath TF, Scholl TO. Nutrition in adolescent pregnancy. Curr Opin Pediatr 2000; 12 (3): 291-6.
10. Casanueva E, Morales M. Nutrición del adolescente. En: Casanueva E, Kaufer-Horwitz M, Pérez-Lizaur AB, Arroyo P. Nutriología médica. 2ª edición. México: Panamericana; 2001. p. 88-101.
11. Story M. Nutrition in adolescence. En: Mahan K, Escott-Stump S. Krause's food, nutrition and diet therapy. 9th ed. Philadelphia, Penn: Saunders; 1996; p. 275-86.
12. Ballabriga A. Nutrición en la adolescencia En: Ballabriga A. Carrascosa A, Eds. Nutrición en la infancia y adolescencia. 2ª edición. Madrid: Ergon, 2001: p. 451-80.
13. Casanueva E, Jiménez J, Meza-Camacho C, Mares M, Simon L. Prevalence of nutritional deficiencies in Mexican adolescent women with early and late prenatal care. Arch Latinoamer Nutr 2003; 53(1): 35-8.
14. Pobocik RS; Benavente JC; Boudreau NS; Spore CL. Pregnant adolescent in Guam. Consume diets low in calcium and other micronutrients. J Am Diet Assoc 2003; 103 (5): 611-14.
15. Monge-Rojas R, Nunez HP, Garita C, Chen-Mok M. Psychosocial aspects of Costa Rican adolescents' eating and physical activity patterns. J Adolesc Health 2002, 31(2): 212-9
16. Rolland-Cachera MF, Bellisle F, Deheeger M. Nutritional status and food intake in adolescents living in Western Europe. Eur J Clin Nutr 2000; 54 (suppl 1): 41-6

17. Giddens JB, Krug SK, Tsang RC, Guo S, Miodovnik M, Prada JA. Pregnant adolescent and adult women similar low intakes of select nutrients. *J Am Diet Assoc* 2000; 100 (1): 1334-40.
18. Busdiecker BS, Castillo DC, Salas AI. Cambios en los hábitos de alimentación durante la infancia: una visión antropológica. *Rev Chil Pediatr* 2000; 71 (1): 5-11.
19. Martínez RC, Rodríguez CA. Influencia de la alimentación en el comportamiento humano a través de la historia. *Offarm* 2002; 21(07): 80-6.
20. Peña E, Sánchez A, Portillo Z, Solano L. Evaluación dietética de adolescentes embarazadas durante el primer, segundo y tercer trimestre. *Arch Latinoamer Nutr* 2003; 53 (2): 133-40.
21. Bourges RH. Costumbres, prácticas y hábitos alimentarios. *Cuadernos de Nutrición* 1990; 13(2): p-18-32.
22. Vargas GL. Factores culturales en la alimentación. *Cuadernos de Nutrición* 1984; 7(4): p17-32.
23. Rozin P. Perspectivas psicobiológicas sobre las preferencias y aversiones alimentarias. En: Contreras J. Alimentación y cultura. Necesidades, gustos y costumbres. Barcelona, España; Alfaomega; 2002: p85-109.
24. Jiménez AG. Creencia y hábitos alimentarios durante el período de embarazo y lactancia de mujeres de aldeas del departamento de Chiquimula, Guatemala, beneficiadas por el Instituto Benson. 2001. Disponible en: <http://benson.byu.edu/members/cflores/relan/vol1.4/1.2/view> .
25. De la Riva G. ¿Por qué come lo que come la población de Mérida? *Cuadernos de Nutrición* 1998; 21 (5): p36-46.
26. Cueva AV, Olvera GJ, Chumacera LR. Características sociales y familiares de las adolescentes embarazadas atendidas en un módulo de alto riesgo. *Rev Med IMSS* 2005; 43 (3): 267-71.
27. Núñez RH, Elizondo UA, Monge RA, Gios DC, Garita C. Características reproductivas de adolescentes costarricenses de área urbana marginal. *Bol Med Hosp Infant Mex* 2002; 59: 633-44.
28. Green NS. Folic acid supplementation and prevention of birth defects. *J Nutr* 2002; 132(8 Suppl): 2356S - 2360S
29. Pöttsch S, Hoyer-Schuschke J, Seelig M, Steinbicker V. Knowledge among young people about folic acid and its importance during pregnancy: a survey in the Federal State of Saxon-Anhalt (Germany). *J Appl Genet* 2006; 47(2): 187-90.
30. Martínez de Villarreal LE, Arredondo P, Hernández R, Villarreal JZ. Weekly administration of folic acid epidemiology of neural tube defects. *Matern Child Health J* 2006; 10(5): 397-401.
31. Rivera DJ, Hotz C, Rodríguez RS, García GA, Pérez EAB, Martínez H, González UMA. Hierro. En: Bourges H, Casanueva E, Rosado JL. Recomendaciones de ingestión de nutrimentos para la población mexicana. México DF: Médica-Panamericana, 2005; tomo 1: 245-64.
32. Fausto GJ, Almanzar CA, Alfaro AN, Valadez GL, García de Alba GR. Patrones de alimentación en adolescentes de educación media básica en la ciudad de Guadalajara. *Memorias Convención Internacional "Salud Pública 2002": "Ante los nuevos retos del siglo XXI, por una salud pública de avanzada"*. La Habana, Cuba; mayo 1 a 4, 2002.
33. Johnson F, Wardle J, Griffith J. The adolescent food habits checklist: reliability and validity of a measure of healthy eating behavior in adolescents. *Eur J Clin Nutr* 2002; 56: 644-40.
34. Popkin BM. An overview on the nutrition transition and its health implications: the Bellagio meeting. *Public Health Nutr* 2002; 5: 93-103.
35. Mazariegos RE, Rodríguez MM, Guerrero RJ, Paniagua R, Amato MJ. Alteraciones en el metabolismo del calcio y fosfato secundarias a la ingestión de refrescos fosforados. *Bol Med Hosp. Infant Mex* 1995; 52: 6-10.

Recibido: 23-10-2007

Aceptado: 12-02-2008

## Cooperative learning strategies to teach nutrition to geriatric nursing staff

Marta Arroyo, Ana M<sup>a</sup> Rocandio, Laura Ansotegui, Estíbaliz Pascual, Concepción Martínez de la Pera

Department of Nutrition and Food Science. Faculty of Pharmacy, University of the Basque Country. Vitoria-Gasteiz, Spain

**SUMMARY.** The objective of this study was to test the hypothesis that cooperative learning strategies will help to increase nutrition knowledge of nurses and nursing assistants caring for the elderly in different institutional communities of the Basque Country, Spain. The target population was a sample of volunteers, 16 nurses and 28 nursing assistants. Training consisted of 12 nutrition education sessions using cooperative strategies conducted over a period of 3 consecutive weeks. The assessment instruments included two pretest and two posttest questionnaires with questions selected in multiple-choice format. The first questionnaire was about general knowledge of applied nutrition (0-88 point scale) and the second one on geriatric nutrition knowledge (0-18 point scale). Data were analyzed using SPSS vs. 11.0. The outcomes indicated a significant increase in general nutrition knowledge (difference between the pre- and post-test mean score:  $14.5 \pm 10.1$ ;  $P < 0.001$ ) and in geriatric nutrition knowledge for all participants (difference between the pre- and post-test mean score:  $4.6 \pm 4.6$ ;  $P < 0.001$ ). So the results indicated that cooperative learning strategies could improve the nutrition knowledge of nursing staff. Additionally, the results of this study provide direction to continuing nutrition education program planners regarding appropriate content and methodology for programs.

**Key words:** Cooperative learning, geriatric nutrition, education program, assessment of knowledge, nurses; nursing assistants.

**RESUMEN. Estrategias de aprendizaje cooperativo para la enseñanza de nutrición en personal de enfermería geriátrica.** El objetivo de este estudio fue comprobar que las estrategias de aprendizaje cooperativo pueden ayudar a incrementar los conocimientos en nutrición de un grupo de enfermeras y auxiliares de enfermería al cuidado de ancianos en diferentes residencias del País Vasco (España). La población objeto de estudio estuvo formada por 16 enfermeras y 28 auxiliares de enfermería que participaron voluntariamente. La formación consistió en 12 sesiones de educación nutricional en las que se utilizaron estrategias de aprendizaje cooperativo y se llevaron a cabo a lo largo de tres semanas consecutivas. Los instrumentos de evaluación incluyeron dos pretest y dos post-test con múltiples opciones de respuesta. El primer cuestionario fue sobre conocimientos generales (con una escala de 0 a 88 puntos) y el segundo sobre conocimientos de nutrición geriátrica (con una escala de 0 a 18 puntos). El análisis estadístico se llevó a cabo con el programa SPSS versión 11.0. Los resultados indicaron un incremento significativo en conocimientos generales sobre nutrición (diferencia entre el pre-test y el post-test:  $14,5 \pm 10,1$ ;  $P < 0,001$ ) y en conocimientos sobre nutrición geriátrica (diferencia entre el pre-test y el post-test:  $4,6 \pm 4,6$ ;  $P < 0,001$ ). Por lo que podemos concluir que las estrategias de aprendizaje cooperativo pueden mejorar los conocimientos sobre nutrición del personal de enfermería. Además, los resultados del presente trabajo proporcionan información útil sobre contenidos y metodología, para el diseño de nuevos programas de educación nutricional.

**Palabras clave:** Aprendizaje cooperativo, nutrición geriátrica, programas de educación, evaluación de conocimientos, enfermeros/as, auxiliares de enfermería.

### INTRODUCTION

Malnutrition, low body mass index and unintentional weight loss are common problems among the elderly home residents (1,2), who typically have many illnesses and clinical problems associated with malnutrition, for example, dementia, depression, falls and hip fractures (3). Good nutritional status is essential for aged residents because of its importance in maintaining a functional status (4) and preventing illnesses such as infections and pressure ulcers (5).

Given the large number of patient contacts and emphasis on health promotion, geriatric nursing staff may play an important role in elderly resident health. An adequate working

knowledge of nutrition science to enhance health and prevent disease is essential for nurse practitioners and nursing assistants to prescribe appropriate dietary interventions and provide some counselling (6).

Nurses and nursing assistants, however, have traditionally received little nutrition training during their education, or time in actual practice (7,8). Nurses learn their nutrition as a small part of a larger overall curriculum and there is no set nutrition knowledge requirement for graduate nurses (9). Nutrition training is therefore narrow at undergraduate level, and some evidence suggests that update of nutrition knowledge by practising registered nurses is also limited (10-12).

Lindseth evaluated the general nutrition knowledge of a

sample of rural nurses (10), geriatric nurses (11) and graduating nurses (13) using the same validated knowledge instrument. Low knowledge scores were reported in all three of these studies (average 65%) with a small number of the nurses having attended nutrition based continuing education programs. Similarly, Crogan et al. (12) reported low knowledge scores (65%) for 44 geriatric nurses with few nurses having attended nutrition training since formal education.

Without proper nutrition education, it is unlikely that nursing staff will be able to be effective in helping reduce the high incidence of nutrition-related death and disease in the institutionalized elderly population (6). Hence, the problem of lack of nutrition education and knowledge among health professionals becomes an even greater concern.

As the need for appropriate nutrition knowledge and information among nursing staff increases, it is important to find a way to incorporate this information into the educational experience. Nutrition education programs need to be developed, implemented, and studied for their effectiveness in improving the nutrition knowledge of this staff. In some nutrition education programs the cooperative learning method has been used successfully (14). Cooperative learning is a structured, systematic instruction strategy in which small groups work together for a common goal (15).

We developed an educational program using cooperative strategies for nurses and nursing assistants caring for the elderly in different institutional communities. The aim of this study was to test the hypothesis that cooperative learning strategies will help to increase the basic and defining nutrition knowledge of this group of professionals.

## METHODS

### Subjects

The target population was a sample of volunteers with special interest in geriatric nutrition, 16 nurses and 28 nursing assistants caring for the elderly in different institutional communities that report to the regional Council of Alava and to the Getxo Council (Basque Country, Spain). All of them were adults, aged 20 to 55 years, with at least a secondary school education. The participants who took part in this study were fully informed regarding the purpose of the study and participated anonymously. Informed consent was obtained from all subjects. This study was reviewed and approved by the Institutional Review Board at the University of the Basque Country.

### Design of the program

In the first phase of this study we determined the overall instructional goal based on needs of the target population. The needs were assessed using a mail survey. 40 volunteers of the total sample completed a questionnaire that included the fol-

lowing questions: A) What geriatric nutrition topics are you most interested in?; B) What motivates you to learn about geriatric nutrition?; C) What features would help you apply the information from the nutritional education program to your daily job?. Information was transcribed and common themes that emerged were identified. Results from the mail survey are shown in Table 1.

TABLE 1  
Summary results mail survey respondents (n=40)<sup>a</sup>

Topic	
Nutrition topics of interest	Meal planning Food links to disease Vitamins and minerals Nutrient requirements
Motivators <sup>b</sup>	Preventing and treating disease Fallacies on diet in the literature Quality of life To put the knowledge into practice To improve the competency in caring for patients
Learning transfer topics	Meal planning Menus References to obtain additional information

<sup>a</sup>This information was used to establish the needs of the population, which is then used to establish the goal of the instruction. <sup>b</sup>Information on motivation was incorporated into the first step of the instructional analysis.

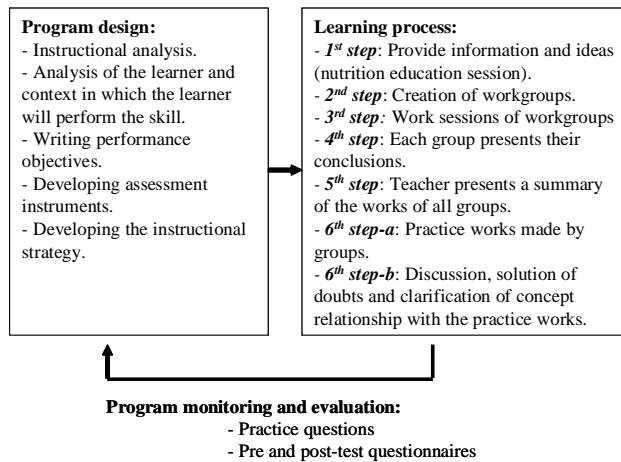
According to the information about the needs of the target population, the program resulted in two sections. The first section included introductory material about nutrition (nutrient digestion, absorption, metabolism, and functions) and dietetic (food sources of nutrients, dietary recommendations, and diet-disease associations). And the second part of the program covered: physiological, sociological and psychological changes associated with ageing, food habits and disease prevention, nutritional assessment, nutrient requirements, quality of diet, nutritional supplements, diet and nutrition myths; dietary treatment for diseases or conditions common in elders; and design and planning of diets for elderly patients.

The design of the program and the summary of the learning process are shown in Figure 1.

Skills included identification and screening of alterations to the nutritional status; dietary and nutritional management of common diseases or conditions in collaboration and consultation with an interdisciplinary team; counselling of geriatric patients about illness and its prevention; health promotion, maintenance, and management.

The last step in the design phase, developing the instructional strategy, consisted making decisions related to how much of information to present at each session, testing the information, selecting pre-instructional activities, writing content to be presented for each objective, and planning activities to aid in the transfer of learning.

FIGURE 1  
Summary of the process



Pre-instructional activities involved informing learners of objectives and motivating them to continue the program. Before the beginning of the training, the educators gave information about learning objectives, the instruction process, rules of working in a cooperative group, roles and assessment strategies (16). To aid in the transfer of learning, a guide containing a script to follow while the learner taught the sessions was provided, thus improving the consistency and accuracy of information presented.

### Teaching techniques

Training consisted of 12 nutrition education sessions conducted over a period of 3 consecutive weeks. Session time was 75 minutes. The educators were lecturers from the Department of Nutrition of the University of the Basque Country and dietitians with experience in nutrition education.

We used a cooperative learning method combining cooperative groups and problem solving (17). In the 6<sup>th</sup> step of the learning process, learners apply concepts from the program to the cooperative management of a problem-based case of a patient. Small group discussion, teamwork and discussions with the educators were used in learning. Additionally, examples and practice questions (case studies, games and simulations) were presented in a context where the learner would perform the skill.

To accomplish the objectives of this study, participants exchanged ideas, made plans and proposed solutions. It was the educator's job so encourage to exchange and structure the learner's work to their communication was productive. The sessions were carried out in a space where the participants could work together. Learners were able to sit in a circle or across the table from each other and work without disruption. This way we promoted the face-to-face interaction (second basic element of cooperative learning) (18).

We used a random method of assigning participants to teams and we also randomly assigned participants to new teams each time a cooperative learning exercise was to be done. The groups were mixed and were made up of nurses and nursing assistants. Group members shared the various roles and were interdependent in achieving the group learning goal. The educators observed each group and recorded the frequency with which each member contributed to the group's work (3<sup>rd</sup> basic element of cooperative learning: individual accountability and responsibility) (18).

While the cognitive process was of primary importance, participants also learnt the importance of maintaining group health and harmony and respecting individual views (4<sup>th</sup> basic element of cooperative learning: social skills) (18).

Materials used for this program were: A) Food Composition Table (19); B) the Recommended Dietary Allowances for Spanish population (20,21); C) Food replicas (Nasco's Life/form®); D) a Food Guide Pyramid adapted for people aged 70 years and over (22); E) tapes (Wander, Modard-1 model) and Holtain skinfold calipers (Holtain Ltd, Crosswell, Crymmych, Dyfed, Great Britain); F) Mini Nutritional Assessment (23); and G) a board game similar to Trivial pursuit with questions related to the program.

The learners were also able to study literature on nutrition available to them so that they could apply the information individually to the nursing home residents.

Following the training, participants and educators filled in a questionnaire after each session about the effectiveness of cooperative learning strategies. In this questionnaire they were asked about: a) the effects of working in a cooperative group on their behavior, interaction and learning achievement; b) the educator's role during the learning period; and c) their opinion about the activities used during the learning period. This way we tried to improve constantly the learning process (5<sup>th</sup> basic element of cooperative learning: group processing) (18).

### Nutrition tests

The assessment instruments included two pretest and two posttest questionnaires (immediately after the program) with questions selected in multiple-choice format. A panel, comprising four experts in the fields of nutrition and geriatrics, designed both questionnaires.

The first questionnaire was about general knowledge of applied nutrition and the second one was about knowledge of geriatric nutrition. A copy of the questionnaires is available upon request.

Test items about general knowledge of applied nutrition were constructed with input from the expert panel and from the literature (24). And for the geriatric nutrition test some items were taken from existing questionnaire (25) while others were generated from the literature (26-29).

To establish criterion validity, the tests were administered to various subpopulations, selected on the basis of their training, education, and exposure to human nutrition and geriatric nutrition. The subpopulations consisted of lay-people (n= 17), nurses and nursing assistants (n= 22), students of human nutrition and dietetics (n= 18), and professional experts (n= 23) on geriatric nutrition. The differences in mean knowledge scores between the subpopulations were significant ( $P<0.001$ ) and in the expected direction (experts > students > nurses and nursing assistants > lay people).

The two final validation tests consisted of a test comprising 88 items about general knowledge of applied nutrition and a test comprising 18 items about geriatric nutrition. Each knowledge item also carried a don't know response. Responses to knowledge items scored 1 point if correct or 0 point if incorrect. Thus, the possible scores ranged from 0 to 88 for the general knowledge of applied nutrition and from 0 to 18 for the geriatric nutrition test.

The test about general knowledge of applied nutrition was divided into three main sections: A) dietary recommendations (the understanding of terms, such as fiber and cholesterol, and the awareness of dietary recommendations); B) nutrition (nutrient digestion, absorption, metabolism, and functions), and sources of nutrients (knowledge of food sources related to advice, that is, which foods contain which nutrients, and use of the information to make dietary choices); and C) awareness of diet-disease associations.

The geriatric nutrition test included 18 questions of the different lecture areas: A) nutritional status; B) nutritional requirements and supplements; C) ageing factors affecting nutritional status (e.g., chewing/swallowing problems, poor appetite, modified diets, poor dentition); D) foods habits and disease prevention, quality of diet, diet and nutrition myths and nutrition related disorders; and E) interventions to improve nutritional status.

### Statistical analysis

Data was analyzed using SPSS 11.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) and presented as mean values and standard deviations. In a preliminary analysis of the data, a Kolmogorov-Smirnov test was used to assess normality. The results of this test were taken into account in order to apply a parametric or a non parametric test of comparison among groups. The differences between independent samples (nurses and nursing assistant scores) were analyzed using Student's test and the Mann-Whitney U test. And the differences between related samples (individual scores) were analyzed using Student's test and the Wilcoxon test. Alpha level for all of these analyses was set at  $P<0.05$  (two-tail test).

## RESULTS

The analysis of the data indicated a significant increase in basic nutrition knowledge for all participants from a pre-test mean score of  $64.57\pm 11.62$  to a post-test mean score of  $74.52\pm 5.31$ . Table 2 shows that the post-tests scored consistently higher than the pre-test on all sections of the questionnaire about basic nutrition knowledge ( $P<0.01$ ).

TABLE 2  
Differences in general nutrition knowledge scores between pre- and post-test (mean $\pm$ s.d.)

General knowledge section (max score)	Total (n=44)
A. Dietary recommendations (11)	2.55 $\pm$ 1.74 <sup>1</sup>
B. Nutrition and sources of nutrients (57)	9.39 $\pm$ 7.54 <sup>1</sup>
C. Diet-disease relationships (20)	2.82 $\pm$ 3.42 <sup>2</sup>
Total (88)	14.52 $\pm$ 10.11 <sup>1</sup>

<sup>1</sup> $P<0.05$ , <sup>2</sup> $P<0.01$ , <sup>3</sup> $P<0.001$

Additionally, the data also showed that nursing assistants differed significantly from the nurses as far as the increase in the basic nutrition knowledge (difference between the pre-test and post-test of the nursing assistants:  $14.80\pm 10.28$ ; of the nurses:  $9.0\pm 7.4$ ;  $P<0.001$ ). The mean scores of nursing assistants indicated a significant increase in the basic nutrition knowledge from a pre-test mean of  $64.37\pm 11.78$  to a post-test mean score of  $74.55\pm 5.44$  ( $P<0.001$ ). While the data show that there was an increase in the pre-test ( $69.5\pm 16.36$ ) to post-test mean scores ( $74.0\pm 15.4$ ) of the nurses, the results were not significant.

Improvement occurred in 84.1% of the learners in the nutrition knowledge, while the remainder (15.9%) has not improved. The results of the responses of the geriatric nutrition questionnaires can be found in Table 3. A significant increase in geriatric nutrition knowledge was found for all participants (difference between the pre-test and post-test:  $4.61\pm 4.64$ ;  $P<0.001$ ). Differences in scores (between the pre and post-test) between two groups, nurses ( $2.38\pm 3.1$ ) and nursing assistants ( $5.89\pm 4.92$ ), were significant ( $P<0.01$ ).

The data also showed that the nurses achieved lower differences between pre-and post-test scores in sections A, C and E of the geriatric nutrition questionnaires, than the nursing assistants ( $P<0.05$ ). Although the nurses scored higher on the pre-test, and showed that they had higher knowledge about the A, C, D and E sections than the nursing assistants ( $P<0.01$ ).

TABLE 3

Differences in geriatric nutrition knowledge scores between pre- and post-test (mean±s.d.)

Geriatric knowledge section (max score)	Total (n=44)	N (n=16)	NA (n=28)
A. Nutritional status (3)	0.84±0.91 <sup>‡</sup>	0.31±0.70	1.14±0.89 <sup>‡</sup>
B. Nutritional requirements and supplements (3)	0.57±0.93 <sup>‡</sup>	0.38±0.89	0.68±0.94 <sup>‡</sup>
C. Ageing factors affecting nutritional status (3)	0.61±1.06 <sup>‡</sup>	0.19±0.75	0.86±1.15 <sup>‡</sup>
D. Food habits and disease prevention, quality of diet, diet and nutrition myths and nutrition related disorders (6)	1.20±1.92	0.63±1.45	1.54±2.10 <sup>‡</sup>
E. Interventions to improve nutritional status (3)	1.39±1.32 <sup>‡</sup>	0.69±1.20 <sup>*</sup>	1.79±1.23 <sup>‡</sup>
Total (18)	4.61±4.64 <sup>‡</sup>	2.38±3.10 <sup>‡</sup>	5.89±4.92 <sup>‡</sup>

N, nurses; NA, nursing assistants; <sup>\*</sup>P<0.05, <sup>‡</sup>P<0.01, <sup>‡</sup>P<0.001

Regarding the questionnaire about the effectiveness of cooperative learning strategies; the educators suggested that there is a need for some newly developed materials. They also expressed the idea that these strategies were very effective and helped participant's understanding concepts. Participant's learning capacity and ability for working in a group were also increased; they participated in the learning process expressing their opinions.

Learners generally liked the instruction linked to working in a group, believing especially that these strategies helped them to understand concepts. Most participants indicated that working in the group provided opportunities to listen to each other, share ideas and form new friendships. They were generally satisfied with the educators' behavior. They admitted that their motivation increased with increasing interaction with the educators.

## DISCUSSION

The analysis of the data collected in the present study indicated that cooperative learning strategies could improve the nutrition knowledge of nursing staff, as was predicted in the hypothesis. Our results were consistent with other authors who have showed that active techniques can increase nurses' participation and as a result can lead to a higher level of learning (30,31). Twenty years ago other authors pointed out that nutrition education classes would more successfully fulfill their purposes when cooperative learning is primarily used (32).

Cooperative learning has been around a long time (33-35). Markedly different theoretical perspectives (social interdependence, cognitive-developmental, and behavioral learning) provide a clear rationale as to why cooperative efforts are essential for maximizing learning and ensuring healthy cog-

nitive and social development as well as many other important instructional outcomes. Hundreds of research studies demonstrate that cooperative efforts result in higher individual achievement than do competitive or individualistic efforts. The combination of theory, research, and practice makes cooperative learning one of the most distinguished of all instructional practices (36).

On the other hand, the nurses scored higher on the pre-tests and showed a marked superiority with regard to knowledge about nutrition. Additionally, the data also indicates that assistant participants differed significantly from the nurses as far as the increase in the nutrition knowledge, both general and specific knowledge. These differences between the nurse and nursing assistant scores may be due to the motivation and the interest. Since other authors found that experienced nursing assistants did not view the nurse as an active participant during mealtimes (6). Although the interaction and collaboration between nurses and nursing assistants during the development of the nutritional education program may enhance learning and program success (37).

We think that the collaborative nursing staff effort served to facilitate learning. Collaboration between nurses and nursing assistants may enhance learning and program success.

Some limitations in this study include: a small sample size and the method of sample selection. The size of the sample limited statistical power. Also, the sample was one of convenience; thus, the subjects may have been more knowledgeable in nutrition principles and intervention, which could skew the results to be more positive than they would be from a representative population sample of all nursing staff.

However this is a pilot study, the results provide direction to continuing nutrition education program planners regarding appropriate content and methodology for programs.

One suggestion for further research might deal with the effect of nutrition education of nursing staff on the health of their patients. It would be important to know if this education program is affecting the health of their patients. This type of study would provide a better understanding of the effectiveness of trying to improve public health by educating nursing staff in nutrition.

## REFERENCES

1. Saletti A, Lidren EY, Johansson L, Cederholm T. Nutritional status according to mini nutritional assessment in an institutionalized elderly population in Sweden. *Gerontology* 2000;46:139-145.
2. Suominen M, Laine T, Routasalo P, Pitkala KH, Rasanen L. Nutrient content of served food, nutrient intake and nutritional status of residents with dementia in a Finnish nursing home. *J Nutr Health Aging* 2005;4:234-238.
3. Compan B, di Castri A, Plaze JM, Arnaud-Battandier F. Epide-

- miological study of malnutrition in elderly patients in acute, sub-acute and long-term care using MNA. *J Nutr Health Aging* 1999;3:146-151.
4. Crogan NL, Pasvogel A. The influence of protein-calorie malnutrition in quality of life in nursing homes. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2003;58:159-164.
  5. Frias Soriano L, Lage Vazquez MA; Maristany CP, Xandri Graupera JM, Wouter-sWesseling W, Wagenaar L. The effectiveness of oral nutritional supplementation in the healing of pressure ulcers. *J Wound Care* 2004;13:319-322.
  6. Crogan NL, Shultz JA, Adams CE, et al. Barriers to nutrition care for nursing home residents. *J Gerontol Nurs* 2001;27:25-31.
  7. Crogan NL, Evans BC. Nutrition education for nursing assistants: an important strategy to improve long-term care. *J Contin Educ Nurs*. 2001;32:216-8.
  8. Crogan NL, Shultz JA. Comparing nutrition knowledge exam scores with reported nutrition topics of interest among nursing home nurses. *JNSD* 2000;16:277-281.
  9. La Trobe University. Bachelor of Nursing Curriculum Document. Submission to the Nursing Board of Victoria, October 2003.
  10. Lindseth G. Evaluating rural nurses for preparation in implementing nutrition interventions. *J Rural Health* 1990;6(3):231-245.
  11. Lindseth G. Nutrition preparation and the geriatric nurses. *West J Nurs Res* 1994;16(9):692-703.
  12. Crogan NL, Shultz JA, Massey LK. Nutrition knowledge of nurses in long-term care facilities. *J Contin Educ Nurs* 2001;32(4):171-176.
  13. Lindseth G. Factors affecting graduating nurses' nutritional knowledge: implications for continuing education. *J Contin Educ Nurs* 1997;28(6):245-251.
  14. Ford SM. Response to using cooperative learning strategies to teach nutrition. *J Am Diet Assoc* 1987;87(9Suppl):S62.
  15. Cooper J, McKinney M, Robinson P. Cooperative/Collaborative Learning: Part II. *The Journal of Staff, Program and Organizational Development* 1991;9(4):239-52.
  16. Johnson DW, Johnson RT. Making cooperative learning work. *Theory into Practice* 1999;38(2):67-74.
  17. Salvin RE. *Cooperative learning: theory, research and practice*. 2<sup>nd</sup> ed. Needham Heights, MA: Allyn and Bacon, 1995.
  18. Johnson DW, Johnson RT. *Learning together and alone*, 2<sup>nd</sup> ed. Englewood Cliffs, NJ: Prentice-Hall, 1987.
  19. Moreiras O, Carbajal A, Cabrera L, et al. *Tablas de Composición de Alimentos*. Madrid, Ed. Pirámide SA., 2001.
  20. Moreiras O, Carbajal A, Cabrera L, Cuadrado C. *Ingestas Recomendadas de energía y nutrientes (revisadas en 2002)*. In: *Tablas de composición de alimentos*. Madrid, Ed. Pirámide SA, 2001.p.127-131.
  21. Arbonés G, Carvajal A, Gonzalvo B et al. Nutrition and dietary recommendations for the elderly. "Public Health" Working Group of the Spanish Nutrition Society. *Nutr Hosp* 2003;18(3):109-137.
  22. Moreiras O, Beltrán B, Cuadrado C. Guías dietéticas en la vejez. In: *Sociedad Española de Nutrición Comunitaria (SENC)*, eds. *Guías alimentarias para la población española*. Madrid: IM&D, 2001.p.379-90.
  23. Guigoz Y, Vellas BJ, Garry PJ. *Mini Nutritional Assessment: A Practical Assessment Tool for Grading the Nutritional State of Elderly Patients*. *Facts and Research in Gerontology* 1994;2(Suppl):15-59.
  24. Parmenter K, Wardel J. Development of a general nutrition knowledge questionnaire for adults. *Eur J Clin Nutr* 1999;53:298-308.
  25. Semb Susan, MSN, RN, CDE. 2003. *CME Resource*, P.O. Box 15163, Sacramento, CA 1991-2004. [www.netce.com/course.asp?course=911](http://www.netce.com/course.asp?course=911); accessed 12 July 2005.
  26. Muñoz M, Aranceta J, Guijarro JL. *Libro Blanco de la Alimentación de los Mayores*. Madrid, Spain: Ed. Médica Panamericana, 2005.
  27. Vellas BJ, Satchel P, Baumgartner RJ. *Intervención nutricional en el anciano*. Barcelona: Glosa, SL, 2002.
  28. Chernoff R. *Geriatric Nutrition: The Health Professional's Handbook*. 2<sup>nd</sup> ed. Gaithersburg, MD: ASPEN Publishers, Inc., 1999.
  29. Morley JE, Glic Z, Rubenstein LZ. *Geriatric nutrition: A comprehensive review*. New York: Raven Press, 1995.
  30. McAllister M. Lisa's lessons: a case study of mental health teaching and learning. *Aust N Z J Ment Health Nurs* 2000;9(1):29-41.
  31. Nasmith L, Steinert Y. The evaluation of a workshop to promote interactive lecturing. *Teach Learn Med* 2001;13(1):43-8.
  32. Johnson DW, Johnson RT. Using cooperative learning strategies to teach nutrition. *J Am Diet Assoc* 1987;87(9Suppl):S55-61.
  33. Johnson DW. *Social psychology of education*. New York: Holt, Rinehart, & Winston, 1970.
  34. Johnson DW, Johnson R. *Cooperation and competition: theory and research*. Edina, MN: Interaction Book Company, 1989.
  35. Johnson DW, Johnson R. *Human relations: Valuing diversity*. Edina, MN: Interaction Book Company, 1999.
  36. Johnson DW, Johnson R, Stanne M. *Cooperative learning methods: a meta-analysis*. 2000. Available in Cooperative Learning Center website: <http://www.clcrc.com/pages/cl-methods.html>; accessed 29 January 2007.
  37. Klinedinst NJ. Effects of a nutrition education program for urban, low-income, older adults: a collaborative program among nurses and nursing students. *J Community Health Nurs* 2005;22(2):93-104.

Recibido: 05-10-2007

Aceptado: 14-12-2007

## Short stature and food habits as determining factors for the low productivity of sugarcane labourers in the State of Alagoas, north-eastern Brazil

*Telma T Florêncio, Haroldo S Ferreira, Jairo C Cavalcante, Monica L de Assunção, Ana Lydia Sawaya*

Federal University of Alagoas, Maceió, AL, Brazil. Federal University of São Paulo  
Rua Botucatu, São Paulo, SP, Brazil

**SUMMARY.** Undernutrition, especially in the prenatal period and/or until 5 years of age, can cause stunting. Adults with short stature resultant from this process show a series of functional deficits, amongst which is a reduced capacity to do physical work. The aim of this investigation was to evaluate the dietary pattern, nutritional status and stature of sugarcane cutters, and to determine possible associations with worker productivity. Sixty-two male sugarcane cutters (18-50 y) were selected randomly from a population of 600 workers from a plantation in Alagoas (Brazil), and classified as underweight, normal weight or overweight according to BMI (BMI = 21.5, 21.5 to = 25 and >25 kg/m<sup>2</sup>, respectively). Body fat composition (%) was estimated by electrical bioimpedance and dietary intake by the direct weighing of food consumed. Whilst the average productivity was 8.13 ton/day, labourers with normal BMI values were more productive (9.12 ton/dia) and ingested significantly ( $p < 0.05$ ) greater amounts of energy (16506.4 kJ/dia) than their underweight ( $7.48 \pm 1.5$ ;  $12380.7 \pm 4184.1$ ) or overweight ( $9.12 \pm 1.5$ ;  $16506.4 \pm 6360.0$ ) counterparts, respectively. There were associations ( $\bar{n} < 0.05$ ) between productivity, stature, energy intake and age. The tallest individuals (= 170 cm) had higher productivity and tended to have a higher energy intake, whilst those with the shortest stature (= 160 cm), had a significantly lower productivity, however ingested a similar quantity of energy, and tended to have a large accumulation of body fat. Multiple regression analysis identified stature as the parameter most associated with productivity, independent of age and body fat percentage. Productivity of the tallest individuals was 1.87 ton/day higher than that of the shortest individuals. The results emphasise the importance of good nutritional status throughout life for full development of working productivity.

**Keywords:** Rural workers, malnutrition, energy intake, productivity.

**RESUMO. Baixa estatura e hábitos alimentares como fatores determinantes de baixa produtividade em cortadores de cana do Estado de Alagoas, Nordeste do Brasil.** A desnutrição, especialmente durante o período pré-natal e/ou até os 5 anos de idade, pode causar déficit estatural. Adultos com baixa estatura resultante desse processo revelam uma série de deficiências funcionais, tal como uma menor capacidade para realizar trabalho físico. O objetivo deste estudo foi avaliar o padrão dietético, o estado nutricional e a estatura de cortadores de cana e investigar possíveis associações com a produtividade desses trabalhadores. Sessenta e dois homens (18-50 anos) foram sorteados a partir de uma população de 600 trabalhadores de um canavial de Alagoas (Brasil) e classificados pelo Índice de Massa Corporal (IMC, kg/m<sup>2</sup>) nas categorias baixo peso (= 21,5), normal (21,5 a = 25) ou sobrepeso (> 25). A proporção de gordura corporal (G%) foi estimada por bioimpedância elétrica e a ingestão dietética por pesagem direta dos alimentos. A produtividade média foi 8,13 toneladas/dia (t/dia). Os trabalhadores com IMC normal foram os mais produtivos (9,12 t/dia) e apresentaram maior ( $p < 0,05$ ) ingestão energética (16506,4 KJ/dia) relativamente àqueles com baixo peso ( $7,48 \pm 1,5$  t/dia;  $12380,7 \pm 4184,1$  KJ/dia) ou com sobrepeso ( $9,12 \pm 1,5$  t/dia;  $16506,4 \pm 6360,0$  KJ/dia). Houve associações ( $\bar{n} < 0,05$ ) entre a produtividade, estatura, ingestão calórica e a idade. Os indivíduos mais altos (= 170 cm) tiveram maior produtividade e apresentaram tendência para uma maior ingestão energética, enquanto aqueles de menor estatura (= 160 cm), tiveram produtividade significativamente menor, ingeriram relativamente a mesma quantidade de energia e tenderam a ter maior acúmulo de gordura corporal. A análise de regressão múltipla identificou a estatura como a variável que mais fortemente associou-se com a produtividade, independentemente da idade e G%. A produtividade dos indivíduos mais altos foi 1,87 t/dia superior à dos indivíduos mais baixos. Esses resultados ressaltam a importância de uma boa condição nutricional ao longo da vida a fim de garantir a esses trabalhadores o pleno desenvolvimento de sua capacidade de trabalho.

**Palavras-chave:** Trabalhadores rurais, desnutrição, ingestão de energia, produtividade.

### INTRODUCTION

Agricultural labour in developing countries is carried out by a large number of workers (1-3) whose productivity may be restricted by under-nourishment (4-6). There are few

studies, however, concerning the productivity of rural workers involved in activities that demand high energy expenditure. It has been previously reported that the productivity of sugarcane cutters was directly related to his body size, lean mass and percentage of body fat, and that the capacity for intense

strenuous labour was proportional to the maximum consumption of oxygen (7-9). Furthermore, the studies showed that all of these determining factors were significantly diminished by chronic undernutrition.

In the northeast of Brazil, 60 million tons of sugar cane are produced annually, most of which is cut manually by a workforce of approximately 100,000 labourers who toil for an average of 8 h per day (10). Owing to the competitive nature of the sugarcane sector, the demand for intensive labour has increased in such a way that the amount of energy required from workers has doubled within the last few years.

The worldwide consumption of sugar increases annually about 2%. In this context, Brazil has an important role to play since some 900,000 Km<sup>2</sup> of its vast land mass are potentially available for sugarcane plantations (11). For these reasons, it is very important that the dietary pattern and health status of sugarcane labourers be thoroughly investigated.

A previous study of a low income urban population from this area revealed that the prevalence of short stature was 22.4% in adult males (12) and that nutritional habits were simple, consisting mainly of non-industrialised foods with low lipid intake and energy consumption below the recommended limits (13), representing a dietary pattern similar to that reported by Castro (14). The studied population consisted of 315 families from a rural population from Maceió, Northeastern Brazil who had migrated to large shanty towns in urban areas and had begun to present a high incidence of chronic diseases (15). It has previously been demonstrated that short stature (=160cm) is an independent and determining factor associated with obesity, hypertension (16) and increased risk of diabetes (17-19).

Since there is scarce literature concerning the effect of short stature on the productivity of rural workers, the present study investigated the dietary pattern, nutritional status and stature of sugarcane cutters in north-eastern Brazil to determine possible associations with worker productivity.

## MATERIALS AND METHODS

### Site of study and subjects

The study was conducted during the 2003/2004 harvesting season and involved sugarcane cutters employed by a factory 25 km distant from Maceió, the capital of the State of Alagoas, Brazil. The company employs approximately 1000 workers to process 750,000 tons of sugarcane each season: 600 of the workers are permanent employees and live in the region, whilst 400 are occasional workers.

The criteria for inclusion in the study were (i) male gender, medium brown ethnicity, (ii) permanent status of employment by the company, since the diet of such individuals during harvesting was likely to remain the same as that during the non-harvesting season, and (iii) individuals who claimed to perform intense physical activities during the non-harvesting

season, in order to avoid any interference with respect to the studied variables through adaptation to strenuous work. The sample was randomly selected from all the 600 permanent workers of the company for the calculation, to reach percentage of 11%. This percentage allowed a precision of 2.5% at the 95% confidence interval. The selected group consisted of 66 men (18 -50 y), who lived in seven farms in the vicinity. During the study, two men left their jobs and two others changed their occupation at the factory, and hence the final sample population consisted of 62 sugarcane cutters.

### Collection of data

Productivity levels were reported at the end of each working day and the results were compiled by the company's supervisor in a table that had to be confirmed by the workers and further verified by the representative of the Sugar Workers Trade Union. Since the remuneration of the labourers was based on the amount (in tons) of harvested sugarcane, it was possible to determine the productivity of each individual from the information provided by the factory, that measures the sugarcane harvest per day in tons. Mean productivity (tons/day) of each individual was determined during the 6 month harvesting period.

Each subject was asked to answer a questionnaire concerning personal details (including age), social, economic background and physical activity. Anthropometric parameters were obtained at the start and the end of the harvest season prior to the working day with subjects bare foot and using light clothes, and included weight, stature, skin fold thickness (triceps, biceps, suprailiac and subscapular) and body fat percentage. Body weight (kg) was determined using a Filizola® electronic scale with a maximum tare of 150 kg and a precision of 100 g, whilst height (cm) was determined using a stadiometer consisting of a non-extendable 2 m measuring tape with 0.1 cm subdivisions. Body mass index (BMI) was given by the quotient of body weight (kg) and the square of the height (m<sup>2</sup>). In order to classify subjects according to their BMI values, the cut-off points proposed by the World Health Organization (20) were adapted since individuals below 21.5 kg/m<sup>2</sup> are not able to perform high intensity work efficiently. Thus, the cut-off points were: underweight, BMI = 21.5 kg/m<sup>2</sup>; normal weight, 21.5 < BMI = 25 kg/m<sup>2</sup>; and overweight/obesity BMI > 25 kg/m<sup>2</sup>. Skin fold thickness was measured using a Lange calliper. Body fat composition (%) was calculated according to the equation proposed by Womersley & Durnim (21) based on the sum of skin fold thickness values. Body fat percentage was also determined by bioelectrical impedance using a Tanita-TBF 300 (Tanita Corporation of America, Arlington Heights, IL, USA) body fat analyser and the equation proposed by Brozek *et al.* (22). All measurements were carried out by trained professionals and followed the recommendations of Frisancho (22).

The typical physical activity of the sugarcane cutters was determined over a complete working period. Normally labourers left the factory headquarters at 5:00 h and were transported on company lorries to arrive in the fields at 6:00 h where they ate breakfast. Work commenced at 6:30 h and was characterised by continuous and repetitive movements that involved encircling the sugarcane stems, bending down, cutting the base of the canes, lifting the bundle, turning round and placing the material in piles. The labourers stopped at 11:00 h for a 2-h lunch break and then continued to work until 16:30 h when company lorries returned them to their homes.

In order to obtain information concerning the habitual eating habits of the subjects, the food that would normally be eaten by the labourers was weighed directly. Sugarcane cutters typically take their breakfast and lunch in two separate containers. On two random days, the meal containers were collected and transferred to the laboratory for weighing: alternative meals were provided by the researchers. In order to evaluate the evening meal, researchers visited their homes on two arbitrary days and weighed the food that would be consumed at dinner. All food samples were weighed on a Filizola electronic scale with a maximum tare of 1500 g and a precision of 0.05 g. At the same time, details about the composition and methods of preparation of the evaluated meals were obtained.

Since labourers chew sugarcane whilst cutting, researchers observed individuals during one half of a working period (4 hours) and determined their average consumption. The amount of sugarcane chewed was converted into juice equivalents in order to facilitate quantification. The energy values of the macronutrients consumed were calculated using a Brazilian software – Programa de Apoio à Nutrição (Nutrition Support Program) (24).

To calculate the energy requirements (ER) of the labourers, we considered the average values for men 18-60y, applying the following equation indicated by the World Health Organization (25):

$$ER = 0.0557 \times 62.5^a + 3.26296 \times 2.1^b = 14.162.8 \text{ KJ}$$

a = average current weight in our sample;

b = factor activity

### Statistical analysis

The results were expressed in terms of central tendency and dispersion, and were analysed by ANOVA and, where appropriate, the Tukey post-hoc test. The homogeneity of variances was verified using Levene's test and the normality of the data was evaluated using the test of Shapiro-Wilk. Simple linear regression was used to assess the relation between the final values of BMI and the anthropometric variables and energy intake. Multiple regression analysis was performed to

establish the main factors (stature, BMI and energy intake) associated with productivity after adjusting for age. All of the statistical analyses were carried out using SPSS 6.0 software (SPSS/PC + Inc., Chicago, IL, USA). A p value of 0.05 was considered statistically significant.

The study was approved by the Ethical Committee of the Federal University of Alagoas. Appropriate informed consent was obtained in writing from each participant prior to the study.

## RESULTS

The anthropometric and nutritional profile is shown in Table 1. The average stature was 168.0 cm, the mean BMI was within the normal range, and the average body fat composition was 13.4%. The typical diet of the workers was composed of only 12 different types of food (Table 2) and provided a balanced content of macronutrients. The average consumption of sugarcane juice was 240 mL/day, and of water drank was 10 L/day (The amount of energy ingested was equivalent to 13774 kJ/day. The average productivity of each sugarcane cutter was  $8.13 \pm 1.6$  ton/day.

TABLE 1  
Characteristics of sugarcane cutters studied at a plantation in Marechal Deodoro (Alagoas, Brazil).

(n = 62)	Mean values $\pm$ SD (range)
Age (years)	34.7 $\pm$ 10.8 (18 – 50)
Weight (kg)	62.5 $\pm$ 9.4 (53.5 – 71.5)
Stature (cm)	168.0 $\pm$ 7.4 (158.0 – 179.0)
Initial body fat (%)	13.4 $\pm$ 3.5 (8.3 – 19.2)
Final body fat (%)	13.0 $\pm$ 3.7 (7.8 – 18.0)
Productivity (ton/day)	8.13 $\pm$ 1.6 (4.2 – 12.0)
Energy requirements (kJ)	14162.8
Energy consumption (kJ/day)	13773.7 $\pm$ 5435.7 (10987.1 – 16.506.4)
Daily protein intake (g / kg body weight)	2.10 $\pm$ 0.6 (1.1 – 2.9)
Protein contribution to total energy value (TEV) (%)	15.0
Daily carbohydrate intake (g / kg body weight)	8.5 $\pm$ 2.5 (7.2 – 9.8)
Carbohydrate contribution to TEV (%)	64.0
Daily lipid intake (g / kg body weight)	1.2 $\pm$ 0.3 (0.8 – 1.7)
Lipids contribution to TEV (%)	21.0

TABLE 2  
Dietary composition and main types of food consumed by the sugarcane cutters studied at a plantation in Marechal Deodoro (Alagoas, Brazil)

Macronutrients	Types of food	Quantity (%) ± SD
Proteins	Roast beef, fried fish, minced chicken, boiled eggs	15.0 ± 6.9
Carbohydrates	Brown beans, boiled rice, pasta in oil and garlic sauce, boiled manioc, manioc flour, maize cuscus, sugar cane juice, coffee and sugar	64.0 ± 10.6
Lipids	Soy oil	21.0 ± 9.2

The labourers whose BMI values were within the normal range presented higher productivity and ingested significantly greater amounts of energy than underweight or overweight workers (Table 3). Individuals older than 40 years of age were less productive and ingested lower amounts of energy and proteins than their younger colleagues (Table 4). Although individuals aged between 30 and 35 years were the most productive, the actual differences in productivities were quite small (about 13%) for workers within the age range 18 to 40 years. A highly significant ( $\bar{n} < 0.0005$ ) association between age and productivity was found.

TABLE 3  
Productivity, energy intake and nutrients according to body mass index (BMI) of sugarcane cutters studied at a plantation in Marechal Deodoro (Alagoas, Brazil)

BMI (kg/m <sup>2</sup> )	Number of individuals n (%)	Average (±SD) productivity (ton/day)	Average (± SD) energy intake (kJ/day)	Average (± SD) daily nutrient intake (g/kg body weight)		
				Proteins	Carbohydrates	Lipids
< 21.5	25 (40.3%)	7.48 ± 1.5	12380.7 ± 4184.1	2.0 ± 0.5	7.4 ± 3.6	0.8 ± 0.6
21.5 – 25	30 (48.4%)	9.12 ± 1.5*	16506.4 ± 6360.0*	2.1 ± 1.5	9.8 ± 4.1*	1.7 ± 0.7*
> 25	7 (11.3%)	7.80 ± 1.7	13215.1 ± 1251.4	2.0 ± 0.5	8.5 ± 1.4	1.2 ± 0.3

\*  $\bar{n} < 0.05$

TABLE 4  
Productivity and intake of energy and proteins according to age groups of sugarcane cutters studied at a plantation in Marechal Deodoro (Alagoas, Brazil)

Age groups (years)	Number of individuals n (%)	Average productivity (ton/day)	Average daily energy intake (kJ/kg body weight)	Average daily protein intake (g/kg body weight)
18 – 24.9	16 (25.8%)	8.21 ± 1.1	245.6 ± 46.1	2.3 ± 0.4
25 – 29.9	10 (16.1%)	8.38 ± 1.7	252.3 ± 107.7	2.4 ± 0.7
30 – 34.9	9 (14.5%)	8.60 ± 1.6	241.0 ± 107.5	2.3 ± 0.8
35 – 39.9	10 (16.1%)	8.43 ± 2.0	223.4 ± 45.0	2.1 ± 0.6
40 – 44.9	9 (14.5%)	7.90 ± 1.8*	197.5 ± 63.5*	1.8 ± 0.6*
45 – 50	8 (12.9%)	7.25 ± 1.3*	177.8 ± 86.6*	1.7 ± 0.6*

\*  $\bar{n} < 0.05$

There were statistically significant associations ( $\bar{n} < 0.05$ ) between productivity, stature, energy intake and age (Table 5). The tallest individuals had higher productivity and tended to have a higher energy and protein intake. Those with short stature (Height = 160 cm) had relatively higher protein and energy intake and tended to have a larger accumulation of body fat but not higher productivity. Older men tended to be of

shorter stature than their younger counterparts and presented higher percentages of body fat and lower productivities. On the other hand, young men were taller, exhibited lower percentages of body fat and higher productivities. The loss of body fat during the harvesting season was minimal within all age groups and the mean differences were not statistically significant.

TABLE 5  
Productivity, intake of energy and proteins, body fat composition and average age of sugarcane cutters at a plantation in Marechal Deodoro (Alagoas, Brazil) distributed according to stature groups

Stature (cm)	Number of individuals n (%)	Average age (years)	Average productivity (ton/day)	Average daily energy intake (kJ/day)	Average daily protein intake (g/ kg body weight)	Body fat composition		
						Initial (a) (%)	Final (b) (%)	Loss $\Delta = a - b$
158 – 159.9	12 (19.4%)	42 ± 12.3	7.14 ± 1.6*	14292.5 ± 4300.3	2.2 ± 0.7	17.7 ± 4.3	16.6 ± 5.7	1.1
160 – 164.9	16 (25.8%)	35 ± 10.7	7.90 ± 1.7	11593.9 ± 4449.4	1.8 ± 0.7	13.7 ± 2.2	12.9 ± 2.0	0.8
165 – 169.9	12 (19.4%)	37 ± 10.3	7.95 ± 1.5	12041.6 ± 3969.6	1.9 ± 0.7	13.3 ± 3.6	12.4 ± 4.3	0.9
170 – 174.9	12 (19.4%)	30 ± 8.6	9.01 ± 1.5*	15388.8 ± 5217.7	2.4 ± 0.5	12.3 ± 3.5	11.4 ± 2.5	0.9
= 175	10 (16.1%)	26 ± 7.4	8.65 ± 1.4	15551.9 ± 6758.2	2.2 ± 0.7	9.8 ± 2.5	9.5 ± 1.9	0.3

\*  $p < 0.05$

Multiple regression analysis of the results identified stature as the parameter most associated with productivity, even after adjusting for age and proportion of body fat. In this context, the tallest individuals (= 170 cm) cut 1.87 tons of sugar cane per day more than the shortest (= 160 cm) individuals.

## DISCUSSION

In order to attain the production targets established by the sugar and alcohol industries, rural labourers must be able to endure intense physical activity during the long hours of work demanded throughout the harvesting season. The present results indicate that 48.4% of the total of sugarcane cutters studied presented BMI values above 21.5 kg/m<sup>2</sup>, whilst their body fat percentages were similar to those found in athletes. Their productivity was 2-fold higher (8.13 ton/day) than that determined some decades earlier for Guatemalan and Colombian workers (7, 8, 26), with similar nutritional status. It is likely that the increment in productivity depends on the current wages system, based on worker productivity.

The diet of the studied labourers was monotonous but well-balanced in terms of macronutrients. The quantities of food consumed in each meal were small in accordance with the low level of earnings of the workers. Meals were characterised by ingredients rich in carbohydrates, and consisted basically of maize, beans, rice and manioc preparations, together with easily accessible animal products such as fish, free-range chicken and eggs. Drinking coffee with sugar was also common. Fruits and vegetables were rarely found in the evaluated meals. It is likely that this dietary profile amongst the rural population has been responsible for the high prevalence of short stature (27-29). It is well known that inadequate nutrition in early life and growth deficit can produce deleterious effects in adult life, including obesity and other symptoms associated with metabolic syndrome (30,31).

Studies involving different categories of manual workers have demonstrated that only well-nourished individuals are

able fully to develop their productive potential (6, 32-35). The present investigation revealed that mean energy intake was 13773.7 kJ/day, whilst the ideal daily intake should be 14162.8 k according to the WHO (25) recommendations for highly active men or 15062.4 kJ/day (9). Underweight labourers ingested 12380.7 kJ/day only.

The average amount of protein ingested by workers was similar to that recommended for elite athletes, i.e. 1.5 to 2.5 g/kg weight (36). However, it is important to consider that when energy needs are not fully met, part of this protein can be used to overcome energy deficiency, especially in the case of underweight workers, rather than being channelled into normal dynamic and structural functions (26). According to Ferreira et al. (37), the daily intake of carbohydrate by individuals who perform intense physical exercise should be 10 g/kg body weight in order to restore muscle glycogen and to preserve muscle protein. This implies that to reach an adequate consumption of carbohydrate, these workers should ingest about 625g/day. The well-nourished (BMI = 21.5 kg/m<sup>2</sup>) ingested 612 g/day of carbohydrate, which is comparable with the recommended value. With respect to lipid nutrients, the undernourished workers (BMI < 21.5 kg/m<sup>2</sup>) received amounts that were below the recommended daily intake of 1 g/kg body weight (38).

In the present study, highest productivity was associated with young (30 – 35 year old) and well-nourished (BMI = 21.5 < 25 kg/m<sup>2</sup>) labourers, and this finding demonstrates the negative effect of underweight and overweight on productivity. A negative correlation between productivity and age was also established, and this was attributed to the diminished aerobic capacity of older workers, as previously suggested (39-41).

The present work demonstrated that men of short stature, although ingesting adequate energy amounts, exhibit increased body fat percentages and lower productivities compared with their taller workmates. Although it is not possible to affirm that the short stature of all the workers studied was determined by under-nutrition in the phases of growth and development,

as genetic factors can also be involved, the body of evidence seems to indicate that growth retardation is responsible for low productivity. A study of sugarcane cutters in Australia and Zimbabwe (42) observed that the tallest men presented the highest aerobic capacities and were the most efficient workers. Moreover, a study in India reported that rural labourers ingesting higher amounts of energy and having larger chest girths (at inhalation) were the most productive (6).

In a previous study, we have shown that the prevalence of short stature amongst men living in a shanty town was 22.4 %. Since, most people living in this area are rural migrants, it may be that those with short stature were induced to migrate because of their low productivity, among other reasons (12).

Stepwise multiple regression analysis revealed a significant relationship between productivity, stature, BMI and energy intake, and emphasised the importance of nutritional status, during the early life of the individual to development of working capacity. The most productive workers were those with BMI = 21.5 kg/m<sup>2</sup>, of high stature and with balanced energy intake (16506.4 kJ): moreover, their wages were higher implying that they could afford a better quality of life. Chronic undernutrition must be eradicated if an enhancement in rural productivity is to be achieved, and this goal will only be possible through an improvement in the quality of the diet of the workers.

## REFERENCES

- Alessi NP, Navarro VL. Saúde e trabalho rural: o caso dos trabalhadores da cultura canavieira na região de Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil. *Cad Saúde Pública* 1997; 13 (Suppl. 2), 111-21.
- Roy SK. Factors affecting the work productivity of Oraon agricultural laborers of Jalpaiguri district, West Bengal. *Am J Phys Anthrope* 2002; 117: 228-35.
- Weinberger K. Assessment of the nutritional impact of agricultural research: the case of mungbean in Pakistan. *Food Nutr Bull* 2005; 26: 287-94.
- Belavady B. Nutrition and efficiency in agricultural laborers. *Indian J Med Res* 1966; 54: 971-76.
- Viteri FE, Torun B, Immink MDC, Flores R. Marginal malnutrition and working capacity. In *Nutrition in Health and Disease and International Development*, pp. 277-283 [AE Harper and GK Davis, editors]. New York: Alan R. Liss. 1981
- Roy SK, Mozumdar A, Kar S. Effect of skill on work productivity and physical body dimensions of the Oraon tea garden labourers of the Jalpaiguri district, West Bengal, India. *Anthropol Anz* 2005; 63:449-60.
- Spurr GB, Barac-Nieto M, Maksud MG. Productivity and maximal oxygen consumption in sugar cane cutters. *Am J Clin Nutr* 1977; 30:322-25.
- Spurr GB, Barac-Nieto M, Maksud MG. Energy expenditure, productivity, and physical work capacity of sugarcane loaders. *Am J Clin Nutr* 1977; 30:1740-46.
- Spurr GB. Body size, physical work capacity and productivity in hard work: Is bigger better? In *Linear Growth Retardation in Less Developed Countries*, Nestlé Nutrition Series, 14 [JC Waterlow, editor]. New York: Raven Press. 1988
- Food and Agriculture Organization (FAO). Sugar. Global information and early warning system on food and agriculture. *Food Outlook* 2004; 3:18-19.
- Jarrell P, Rekas M. Biofuels Coming Online: International Biofuel Use Expands. United States Department of Agriculture. Foreign Agricultural Service FAS Worldwide. July 2006.
- Florêncio TMMT, Ferreira HS, França AP, Cavalcante JC, Sawaya AL. Obesity and undernutrition in a very-low-income population in the city of Maceió, northeastern Brazil. *Brit J Nutr* 2001; 86:277-85.
- Florêncio TMMT, Ferreira HS, Luciano SM, Cavalcante JC, Sawaya A. Food consumed does not account for the higher prevalence of obesity among short-statured adults in a very-low-income population in the northeast of Brazil (Maceió, Alagoas). *Eur J Clin Nutr* 2003; 57:1437-46.
- Castro J. *Geografia da Fome*. Rio de Janeiro:Editora Antares, 1946.
- Florêncio TMMT, Ferreira HS, Cavalcante JC, Sawaya AL. Short stature, obesity and arterial hypertension in a very low income population in Northeastern Brazil. *Nut Metab Cardiovas Dis* 2004; 14:1-8.
- Varela-Silva MI, Frisancho AR, Bogin B, Chatkoff D, Smith PK, Dickinson F, Winham D Behavioral, environmental, metabolic and intergenerational components of early life undernutrition leading to later obesity in developing nations and in minority groups in the U.S.A.. *coll Antropol.* 2007 Mar;31(1):39-46.
- Jackson AA. Nutrition in the early life – “long term effects”. *Cajanus* 1997; 30:197-214.
- Sichieri R, Siqueira SK, Pereira AR, Ascherio A. Short stature and hypertension in the city of Rio de Janeiro, Brazil. *Public Health Nutr* 1999; 3: 77- 82.
- Sawaya AL, Martins PA, Martins VJB. Impact of globalization on food consumption, and health in urban areas. Case study: Brazil. FAO Technical Workshop on “Globalization of food systems: impacts on food security an nutrition”, Rome, Italy. 2003
- World Health Organization. *Physical Status: the Use and Interpretation of Anthropometry*. Technical Report Series no. 854. Geneva: WHO, 1995.
- Womersley J, Durnin JA. A comparison of the skinfold method with extent of overweight and various weight-height relationships in the assessment of obesity. *J Nutr* 1977; 38: 271-84.
- Brozek J, Grande F, Andreson JT, Kemp A. Densitometric analysis of body composition: some quantitative assumptions. *Ann NY Acad Sci* 110,113-140, 1963.
- Frisancho AR. *Anthropometric Standards for the Assessment of Growth and Nutritional Status*. Ann Arbor: The University of Michigan Press, 1990.
- Escola Paulista de Medicina. Programa de Apoio à Nutrição, Centro de Informática, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, Brazil, 2005.

25. World Health Organization. Energy and Protein Requirements. Technical Report Series no. 724. Geneva: Joint WHO/Food and Agriculture Organization Expert Committee, 1985.
26. Immink MDC, Blake CC, Viteri FE, Flores R, Torun B. Energy supplementation and productivity of Guatemalan sugar-cane cutters: A longitudinal approach. *Arch Latinoam Nutr* 1986; 36: 247-59.
27. Chaves N. Novas estratégias para o combate à fome endêmica. In *Anais da Convenção Nacional de Nutrição e Dietética*, pp. 145 -152. Brasília: Associação de Nutricionistas do Distrito Federal, 1980.
28. Cascudo CL. *História de Alimentação no Brasil*. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, 1983.
29. Freire G. Nordeste. Rio de Janeiro: Editora Record, 1989.
30. Barker DJP. Fetal and Infant Origins of Adult Disease. London: British Medical Journal Publishing, 1992.
31. Popkin BM, Richards MK, Monteiro CA. Stunting is associated with overweight in children of four nations that are undergoing the nutrition transition. *J Nutr* 1996; 126: 3009-16.
32. Wolgemuth JD, Latham MC, Hall AC, Crompton DWT. Worker productivity and nutritional status of Kenyan road construction laborers. *Am J Clin Nutr* 1982; 36: 68-78.
33. Torún B. Increase of physical activity by improvement of the nutritional status. *Arch Latinoam Nutr* 1989; 39: 308-26.
34. Scopinho AR, Eid F, Vian CEF, Silva PRC. Novas tecnologias e saúde do trabalhador: a mecanização do corte da cana-de-açúcar. *Cad Saúde Pública* 1999; 15:147-61.
35. Yamauchi T, Ohtsuka R. Basal metabolic rate and energy costs at rest and during exercise in rural-and urban-dwelling Papua New Guinea highlanders. *Eur J Clin Nutr* 2000; 54: 494-9.
36. Peters EM. Nutritional aspects in ultra-endurance exercise. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2003; 6: 427-34.
37. Ferreira AMD, Ribeiro BG, Soares EA. Consumo de carboidratos e lipídios no desempenho em exercícios de ultra-resistência. *Rev Bras Med Esporte* 2001; 7: 67-74.
38. Haskell WL, Kiernan M. Methodological issues in measuring physical activity and physical fitness when evaluating the role of dietary supplements for physically active people. *Am J Clin Nutr* 2001; 72 (Suppl):541S-50S.
39. Davies CTM. Relationship of maximum aerobic power output to productivity and absenteeism of East African sugar cane workers. *Br J Ind Med* 1973; 30:146-54.
40. Bains K, Kaur B, Mann SK. Measurement of energy cost of selected household and farm activities performed by rural women. *Food Nutr Bull* 2002; 23:274-9.
41. Seale JL, Klein G, Friedmann J, Jensen GL, Mitchell DC, Smiciklas-Wright H. Energy expenditure measured by doubly labeled water, activity recall, and diet records in the rural elderly. *Nutrition* 2002; 18: 568-73.
42. Morrison JF, Blake GT. Physiological observations in cane cutters. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 1974; 33:247-54.

Recibido: 28-08-2007

Aceptado: 18-12-2007

## Cambios en la disponibilidad de alimentos en el Gran Santiago por quintiles de ingreso. 1988-1997

*Mirta Crovetto, Ricardo Uauy*

Facultad de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Playa Ancha, Valparaíso, Chile, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, Universidad de Chile, Santiago; Chile

**RESUMEN.** Se presentan los cambios en la disponibilidad de alimentos en hogares del Gran Santiago 1988-1997, obtenidos por muestra representativa y se analiza posible relación con los cambios en el perfil epidemiológico nacional. Se evaluó el ítem gasto de alimentos/bebidas de la IV y V Encuesta de Presupuestos Familiares, realizada por INE cada 10 años para calcular el Índice de Precios al Consumidor (IPC). Se ordenaron los alimentos por grupo homologando el gasto en alimentos entre ambas encuestas; asignando precios según producto; se determinaron las unidades físicas de alimentos consumidos dentro y fuera del hogar. El gasto en alimentos aumentó, determinando una mayor disponibilidad de alimentos para el total hogares y quintiles de ingreso, incrementándose más en quintiles más pobres. Se eleva el consumo aparente de cereales procesados, productos de pastelería, carnes de ave y cerdo, lácteos procesados, jugos preparados y bebidas, cremas, mayonesa, comidas preparadas para llevar al hogar y comidas fuera del hogar. Pescados, verduras y frutas aumentan levemente con una gran disminución de las legumbres. El perfil alimentario actual se caracteriza por mayor disponibilidad de productos de origen animal y alimentos procesados; aumentando la densidad energética, calorías grasas, grasas saturadas, azúcares simples de alto índice glicémico; baja la disponibilidad de alimentos aportadores de antioxidantes, fitoquímicos, fibra dietaria y ácidos grasos omega 3. Estos cambios probablemente han impactado notablemente el perfil epidemiológico y nutricional del país, manifestándose por aumento epidémico de la obesidad, y las enfermedades crónicas relacionadas con la dieta y la inactividad física.  
**Palabras clave:** Patrón dietario, consumo aparente, perfil nutricional, enfermedades crónicas.

### INTRODUCCION

Chile, entre 1988 y 1997 experimentó un aumento del ingreso, generando un mayor gasto y acceso a los alimentos, incrementándose la disponibilidad de alimentos y consumo aparente de nutrientes (1).

Las tendencias del gasto en alimentos se relacionan con cambios en la ingesta y sirven para predecir cambios dietarios asociados a riesgos nutricionales derivados del déficit o exceso del consumo alimentario (2-6). Con el fin de conocer los cambios en la disponibilidad de alimentos en Chile entre 1988 y 1997, se analizó el gasto en alimentos en los hogares del Gran Santiago contenidos en la Cuarta (IV E) y Quinta

**SUMMARY. Changes in food availability in metropolitan Santiago Chile according to income (quintiles) 1988-1997.** Changes in household food availability from 1988-1997 obtained in a representative sample of Metropolitan Santiago were assessed; and related to observed changes in the epidemiological profile. We evaluated expenditures in food and beverages from the IV and V Household Expenditure Surveys conducted every 10 years by the National Institute of Statistics to calculate the Consumer Price Index. Food items were similarly grouped and expenditures from both surveys adjusted to concordance by assigning prices according to of food; the units consumed outside and at home were determined. Food expenditures increased, leading to greater food availability in all households and income categories; the increment was largest in the poorest quintiles. Apparent consumption of processed cereals, pastries and baked goods, poultry and pork, processed dairies, beverages and juices, dressings and mayonnaise, pre cooked meals and meals consumed "out of home" increased. Fish, vegetables and fruits increased slightly with a concomitant decrease in legumes. The present dietary pattern is also characterized by a greater availability of animal food products and processed foods; increased energy density, fat and saturated fat energy, sugars and high glycemic index foods; lower in phytochemicals, antioxidants, dietary fiber and omega-3 fatty acids. These changes are probably having a significant impact on the epidemiological and nutritional profile of the country; as manifested by an epidemic increase in obesity and chronic disease burden related to diet and physical inactivity.

**Key words:** Apparent consumption, dietary pattern, nutritional profile, chronic disease.

Encuesta (VE) de Presupuestos Familiares (EPF) para el total de hogares y quintiles de ingreso (7,8). Los objetivos fueron:

1. Conocer la disponibilidad de alimentos de los hogares del Gran Santiago entre 1988 y 1997 en una muestra representativa de hogares.
2. Identificar los principales cambios en la disponibilidad de alimentos.
3. Analizar los cambios en la disponibilidad de alimentos y su posible relación con el perfil epidemiológico observado en el país.

## MATERIAL Y METODOS

La IV y V EPFs realizadas por el Instituto Nacional de Estadísticas (INE) sirvieron de base para cumplir los objetivos del estudio. La IV E se realizó entre diciembre de 1987 y noviembre de 1988 en 5076 hogares, y la V E entre agosto de 1996 y julio de 1997 a una muestra de 8445 hogares. Los datos de alimentación corresponden a gastos privados de los hogares, no incluyen transferencias ni programas alimentarios ni comidas gratuitas dadas por los empleadores. La información será presentada en 5 grupos correspondiente a cada quintil del ingreso del hogar. Se registró información del tamaño del hogar por quintiles, por lo cual, la disponibilidad de alimentos será expresada como promedio-hogar o promedio-persona-hogar. Para obtener la disponibilidad de alimentos en base al gasto se usaron los precios registrados por el INE con el siguiente método que será descrito en forma resumida (9,10). La metodología detallada será motivo de otra publicación.

### a) Ordenamiento de los datos por grupos de alimentos.

Se clasificaron y ordenaron en 16 grupos; 1) pan, cereales y féculas; 2) cárneos; 3) productos del mar; 4) lácteos; 5) huevos; 6) aceites y grasas, 7) frutas; 8) verduras, 9) legumbres; 10) azúcares; 11) bebidas y jugos; 12) bebidas alcohólicas; 13) comidas preparadas para llevar al hogar; 14) comidas fuera del hogar; 15) bebidas fuera del hogar y 16) misceláneos y varios.

**b) Homologación del gasto en alimentos.** La IV E contiene información sobre el gasto de 360 variedades de productos y la VE 131 variedades, por lo cual se homologó la información de la IVE en base a las 131 agrupaciones de la VE.

**c) Asignación de precio por producto.** Se procedió a: i) listar los alimentos con sus precios y unidades de medida ii) las series de precios de referencia fueron las del INE para las canastas de Abril 1989=100, para la IV E y de Diciembre 1998=100, para la VE; iii) los productos con más de un precio se les estimó un valor ponderado según la estructura del gasto del producto; iv) los alimentos sin precio fueron homologados a similares en base a criterio de uno de los autores M.C.; v) los precios obtenidos se deflactaron por el Índice de Precios de los Alimentos (IPA); vi) se seleccionó un grupo de alimentos de alta ponderación en el gasto para estimar la disponibilidad de cada quintil ajustado por los precios reales; pan, carne de vacuno, pollo, cecinas, leche, quesos, aceite, helados, bebidas gaseosas, cerveza y vegetales de alta estacionalidad; tomate, porotos verdes, porotos granados. La representatividad de estos productos se asoció con la alta ponderación en el gasto en alimentos, los que en general, dan cuenta entre un 40-50 %

del gasto en alimentos en todos los quintiles de ingreso.

**d) Unidades físicas de los alimentos.** Se obtienen los alimentos disponibles a través de la relación precio por unidad física. Para su cálculo se consideraron las unidades físicas correspondientes a las canastas abril 1989 y diciembre 1998 asociadas al precio (10-15).

**e) Otras consideraciones.** i) Comidas Preparadas para llevar al hogar y Alimentación Fuera del Hogar. Se determinaron productos que representaran el gasto de los hogares por quintil de ingreso. ii) Consumo de alimentos por personas no integrantes del hogar. Se ajustó a la disponibilidad promedio de los miembros del hogar, el gasto asociado a las personas que prestan un servicio al interior de los hogares, por horas de permanencia y quintil, el que se descontó al consumo total del hogar.

## Presentación y discusión resultados específicos

### Gasto en alimentación y su evolución entre 1988-1997. Valores absolutos y porcentuales

Tabla 1. Todos los hogares aumentaron el gasto absoluto, el que fue significativamente mayor en el grupo más rico; el quintil II aumentó en \$ 27.882, contrastando con un aumento de \$ 39.171 para el quintil V. El porcentaje del gasto en alimentos de los hogares de más altos ingresos es muy inferior al % del gasto en alimentos de los hogares con menores ingresos, lo que refleja en forma atenuada la desigualdad en la distribución del ingreso.

El gasto en alimentos es un indicador económico de los hogares. Estudios indican que los pobres destinan entre el 50% y 70% y los indigentes el 100% de sus ingresos a alimentación (16,17). La definición de indigencia y pobreza a nivel nacional e internacional tradicionalmente se basa en este hecho poniendo como puntos de corte más de un 50 % y un 100 % del gasto en alimento, respectivamente. Los resultados expresan que en términos absolutos si bien el gasto en alimentos se incrementa en todos los quintiles de ingreso, la proporción del gasto en alimentos como porcentaje del gasto total, disminuye en promedio un 6.1 puntos porcentuales en todos los quintiles y esta disminución es mayor a medida que se asciende en el nivel de ingreso, indicando que los hogares diversifican el gasto en otros bienes de consumo. Una contribución menor a ello es la reducción del tamaño del hogar entre un 0,2 a 0,3 personas por hogar, situación relacionada con los cambios demográficos de la población (18). Las EPF registran el tamaño del hogar lo que no permite definir una adecuación del gasto a necesidades nutricionales de sus miembros.

TABLE 1  
Evolución del gasto en alimentos en valores absolutos (pesos) (1) y porcentaje y tamaño hogar.  
Total hogares y quintil de ingresos. Gran Santiago. 1988 - 1997

Hogares	Gasto absoluto 1988	Gasto absoluto 1997	% Variación gasto absoluto 1988/1997	% Gasto alimentos 1988	% Gasto alimentos 1997	% Variación gasto en alimentos	Tamaño hogar 1986	Tamaño hogar 1997
I Quintil	46.784	62.648	33,9	52,3	43,6	-8,7	3,3	3,1
II Quintil	60.872	88.754	45,8	48,4	39,5	-8,9	4,1	3,8
III Quintil	78.907	108.439	37,4	42,3	35,6	-6,7	4,3	4,1
IV Quintil	105.179	134.519	27,9	37,6	29,6	-8,0	4,5	4,2
V Quintil	162.545	202.336	24,5	23,1	18,4	-4,7	4,2	4,0
Total Hogares	90.878	119.149	31,1	32,9	26,8	-6,1	4,1	3,8

(1): Precios nominales de diciembre de 1988, deflactados por IPC a valor real enero 1997.

Elaborado en base a IV y V EPF, INE

### Disponibilidad de alimentos

La disponibilidad de alimentos y sus cambios se presentan en las Tablas 2 A, 2B, 2C y 2D. Se presentan y analizan 35 productos en forma resumida. La selección de los productos se realizó en base a los siguientes criterios i) mayor representatividad definida por el peso relativo del gasto en relación a otros del grupo ii) cambios importantes (aumento o disminución) en alimentos; iii) mayores variaciones por quintil de ingreso.

**Tabla 2 A.** Pan y cereales. El pan y las papas disminuyen y los cereales para el desayuno y productos de pastelería son los que más aumentan en todos los quintiles. El pan, de alta ponderación en el gasto de los hogares, representativo del patrón de consumo tradicional, disminuye su disponibilidad en todos los grupos, situación que se repite con las papas. En los quintiles IV y V el pan disminuye un 19% y un 20% respectivamente. El pan es sustituido por los cereales para el desayuno y pastelería, productos industrializados con un alto contenido de grasas y azúcares. Los cereales para el desayuno aumentan casi cuatro veces para el total de hogares (355%) y más de cinco veces en el quintil III (531%). A su vez, los productos de pastelería se incrementan un 53% para el total de hogares, fluctuando entre un 103% en el II quintil a un 30% en el IV quintil. Estos cambios, implica una alimentación de mayor densidad energética y, posiblemente de sobre consumo de energía (19,20).

**Cárnes.** Aumento significativo de los cárneos en todos los quintiles, en especial, de cerdo y pollo, con un comportamiento diferenciado según tipo de carne, a excepción de la carne de cordero que disminuye su disponibilidad en todos los quintiles de ingreso. La carne de vacuno es la de mayor disponibilidad en los hogares. Aumenta un 4% para el total de hogares y un 19% y un 28% para los quintiles II y III

respectivamente, con un decrecimiento de un 20% en el V quintil. La carne de cerdo, se incrementa en casi cuatro veces en los quintiles II y IV (388%) y (387%) respectivamente, y cinco veces en el quintil III (505%). La carne de pollo, se incrementa en un 80% para el total de hogares; más del doble para el II quintil (138%) y un 48% en el V quintil. Las cecinas y carnes procesadas son una fracción importante de la disponibilidad en este grupo, entre un 15% a 30% respecto al total de carnes, con un mayor aumento en los hogares de menores ingresos. El aumento en la disponibilidad de cecinas tiene relación de causalidad con algunos tipos de cáncer como el colorectal y son un aporte significativo de grasas saturadas, factor de riesgo cardiovascular (21, 22).

**Pescados.** Aumentan en menor proporción que las otras carnes. Si bien, el consumo per cápita casi se duplicó para el total de hogares, en promedio, 3 a 4 gramos per cápita día según quintil, en gran parte merluza y congrio, que son bajos en grasa. El bajo consumo de pescado tiene una gran importancia potencial, como factor de riesgo para el infarto al miocardio, la hipertensión arterial y los accidentes vasculares cerebrales, principales causas de muerte de los chilenos en las últimas décadas. La recomendación de protección cardiovascular es de 150 gr semanal de pescado alto en grasa, es decir, 20 gr diarios, 2-3 veces el consumo actual (23).

**Lácteos.** Su disponibilidad aumenta en todos los grupos quintiles. La leche, es el producto de mayor disponibilidad en este grupo, a pesar que experimenta la menor variación en relación a los otros productos lácteos. El queso es el producto que tiene el mayor incremento, seguido de los postres preparados. Los quesos, aumentan su disponibilidad en un 109% para el total de hogares, variando más de dos veces (241%) en el II quintil a un 68% en el V quintil. Los postres lácteos aumentan en un 181% para el total de hogares, variando

de un 170% en el II quintil a un 199% en el V quintil. El yogurt, aumenta su disponibilidad en todos los grupos, con un mayor aumento en los quintiles de menores ingresos II y III (153%) y (125%), respecto a los de mayores ingresos. El gran aumento de quesos y procesados, como el yogurt y postres lácteos, representan una parte importante del consumo aparente de grasas saturadas con implicancia en el perfil lipídico y riesgo cardiovascular, y azúcares, que contribuyen a la obesidad promoviendo el sobre consumo de energía (24).

**Huevos.** Disminuye el consumo unitario y se incrementa en procesados como tortas, pastelería, mayonesa. El consumo de huevo ha sido tradicionalmente asociado a riesgo cardiovascular, la evidencia más reciente sugiere que el colesterol dietario tiene un rol menos relevante que la calidad de la grasa de la dieta en definir riesgo cardiovascular, por lo tanto, el consumo promedio total hogares de cerca de un huevo semanal, es más bien bajo. Es importante evaluar la calidad de la grasa en productos procesados de alta disponibilidad en los hogares.

TABLA 2A

Disponibilidad de Alimentos por hogar y per cápita y sus cambios.1988-1997. Total hogares y quintiles de ingreso (g y%)

	TH		TH		Q I		Q I		Q II		Q II		Q III		Q III		Q IV		Q IV		Q V		Q V							
	87-88	96-97	87-88	96-97	87-88	96-97	87-88	96-97	87-88	96-97	87-88	96-97	87-88	96-97	87-88	96-97	87-88	96-97	87-88	96-97	87-88	96-97	87-88	96-97						
	g/h	g/p	g/h	g/p	%h	g/h	g/p	g/h	g/p	%h	g/h	g/p	g/h	g/p	%h	g/h	g/p	g/h	g/p	%h	g/h	g/p	g/h	g/p	%h					
<b>Pan y Cereales</b>																														
Pan	27769	226	22929	201	-17	23701	208	19558	217	-17	27186	221	23613	207	-13	29220	227	25377	206	-13	31306	232	25450	202	-19	27395	212	21849	182	-20
Cereales desayuno	43	0,35	197	2	355	20	0,2	75	1	273	27	0,2	119	1	349	22	0,2	139	1,13	531	47	0,3	217	2	361	100	1	433	4	331
Pasteles	1654	13	2533	22	53	452	4	919	10	103	802	6,5	1509	13	88	1124	9	1945	15,8	73	2112	16	2743	22	30	3780	29	5452	45	44
Papa	11109	90	10635	93	-4	8918	78	8295	92	-7	10465	85	10403	91	-1	11060	86	10526	86	-5	12764	95	12133	96	-5	12325	96	11814	98	-4
<b>CARNES</b>																														
Vacuno	4639	38	4820	42	4	2891	25	3434	38	19	3568	29	4563	40	28	4348	34	4683	38	8	5132	38	5004	40	-2	7273	56	5823	49	-20
Cordero	47	0,38	22	0,19	-54	33	0,3	7	0	-79	32	0,3	14	0,1	-87	28	0,2	15	0,1	-47	81	0,6	26	0,2	-68	63	0	47	0	-24
Cerdo	208	2	469	4	126	61	0,5	249	3	311	134	1,1	388	3	190	179	1	505	4	182	277	2,1	544	4	96	387	3	1246	10	222
Ave	2111	17	3799	33	80	1199	11	3191	35	166	1566	13	3728	33	138	1963	15	3664	30	87	2696	20	4006	32	49	3024	23	4465	37	48
Embutidos	1163	9	3200	28	175	544	4,8	1094	12	101	784	6,4	1621	14	107	1030	8	1810	15	76	1351	10	2057	16	52	2103	16	2550	21	21
<b>PRODUCTOS DEL MAR</b>																														
Pescados	698	6	992	9	42	732	6,4	520	6	-29	433	3,5	742	7	71	617	5	973	8	58	820	6,1	1130	9	38	1234	10	1692	14	37
<b>LACTEOS</b>																														
Leche	13042	106	15991	140	23	5821	51	8695	96	49	7725	63	12904	113	67	10782	84	15239	124	41	15840	117	20014	159	26	25553	198	42366	353	66
Quesos	590	5	1230	11	109	169	1,5	574	6,4	241	239	1,9	826	7	246	473	4	1024	8	116	679	5	1364	11	101	1389	11	2332	19	68
Yogurt	997	8	1866	16	87	374	3,3	939	10	151	577	4,7	1460	13	153	797	6	1795	15	125	1139	8	2029	16	78	2098	16	3108	26	48
Postre	127	1	356	3	181	84	0,7	156	1,7	85	90	0,7	243	2	170	89	0,7	319	2,6	260	137	1	361	3	163	235	2	703	6	199

**Tabla 2 B.** Aceites y grasas. Aumentan su disponibilidad en todos los grupos quintiles, con un comportamiento diferenciado según producto y quintil de ingreso. El aceite, aumenta en mayor proporción en los quintiles de menores ingresos, con un 15% para el total de hogares y un 22%, el más alto para en II quintil. La crema es el producto que experimenta el mayor incremento en todos los grupos quintiles; aumenta casi cuatro veces (391%) para el total de hogares fluctuando en más de ocho veces (869%) para el II, casi siete veces (655%) en el IV quintil y de un 234%, en el V quintil de ingreso. A su vez, la mayonesa, presenta un comportamiento diferenciado por quintil, con un aumento de 164% en el total de hogares; más de doce veces (1229%) en el II quintil, con un decrecimiento en los quintiles de mayores ingresos, siendo

solamente de un 29% en el V quintil. Los aceites y grasas aumentan de 5 a 8 g/per cápita (0,8%).El aumento en las grasas de productos procesados provenientes de crema, mayonesa, carnes y grasas de los lácteos, son un factor de alto riesgo cardiovascular y sobre consumo de energía.

**Frutas.** Aumentan levemente, con un mayor aumento en los quintiles de menores ingresos, siendo de un 25% para el total de hogares ,fluctuando entre un 56% en el quintil II a un 7% en el quintil IV. El promedio varía de 1 unidad a poco más de 1 unidad, muy por debajo de lo recomendado, que es de 2-3 y lo ideal, 4 unidades diarias, para la prevención de enfermedades cardiovasculares y algunos cánceres.

TABLE 2B  
Disponibilidad de alimentos por hogar, per cápita y sus cambios. 1988-1997. Total Hogares y Quintiles de Ingreso.  
Gran Santiago (g y %)

	TH		TH		Q I		Q I		QII		QII		QIII		QIII		QIV		QIV		QV		QV								
	87-88	96-97	87-88	96-97	87-88	96-97	87-88	96-97	87-88	96-97	87-88	96-97	87-88	96-97	87-88	96-97	87-88	96-97	87-88	96-97	87-88	96-97	87-88	96-97							
	g/h	g/p	g/h	g/p	%h	g/h	g/p	g/h	g/p	%h	g/h	g/p	g/h	g/p	%h	g/h	g/p	g/h	g/p	%h	g/h	g/p	g/h	g/p	%h						
<b>ACEITES Y GRASAS</b>																															
Aceite	2411	20	2764	24	15	1764	18	2014	22	14	2144	17	2620	23	22	2403	19	2811	23	17	2854	21	3079	24	8	2889	22	3231	27	12	
Manteca	145	1	85	1	-41	122	1	71	1	-41	140	1	82	1	-41	136	1	89	0,7	-34	190	1	98	1	-48	138	1	86	1	-38	
Mantequilla	126	1	192	2	52	58	1	101	1	74	71	1	133	1	86	124	1	186	2	50	154	1	224	2	46	225	2	319	3	41	
Margarina	634	5	596	5	-6	408	4	408	5	0	528	4	573	5	9	657	5	628	5	-4	741	5	683	5	-8	835	6	688	6	-18	
Crema de leche	34	0	169	1	391	8	0,1	54	1	539	9	0,1	92	1	869	14	0,1	132	1	823	23	0,2	177	1	655	116	1	387	3	234	
Mayonesa	62	1	163	1	164	8	0,1	76	1	913	9	0	125	1	1229	29	0,2	150	1	424	54	0,4	194	2	261	209	2	270	2	29	
<b>FRUTAS</b>																															
Frutas frescas	10645	87	13275	116	25	5028	51	7234	80	44	7039	57	10960	96	56	9383	73	12210	99	30	12442	92	14551	115	17	18733	145	22298	186	19	
<b>VERDURAS</b>																															
Verduras	17186	140	20369	179	19	11198	113	13659	151	22	13917	113	17787	156	28	15816	123	19783	161	25	20312	150	22233	176	9	24657	191	28252	235	15	
<b>LEGUMBRES</b>																															
Legumbres	1430	12	802	7	-44	1211	12	687	8	-43	1413	11	873	8	-38	1534	12	850	7	-45	1810	13	981	8	-46	1180	9	620	5	-47	

**Verduras.** Aumentan levemente al igual que las frutas, se observa un comportamiento diferenciado según quintil. El promedio aumentó de 2 a 21/2 unidades de consumo y de 2 a 3 en el quintil V, menor que el recomendado de 4 unidades. Las frutas y verduras son fuente de fibra, fitoquímicos y antioxidantes que contribuyen a la prevención de enfermedades cardiovasculares y algunos tipos de cánceres (25).

**Legumbres.** Es el producto que tiene la mayor disminución en todos los quintiles siendo de un 44% para el total de hogares, variando de un 38% para el II quintil a un 47% en el V quintil de ingreso, representando un consumo aparente que varía de 12 g a 5 g per cápita para el promedio total hogares y que es prácticamente similar en todos los quintiles. Las legumbres son una de las mayores fuentes de fibra. Las legumbres y en especial, los porotos ya no caracterizan a los chilenos, ni menos a la dieta chilena actual. Esto no sólo tiene un significado de pérdida de identidad culinaria, sino que constituye un factor de riesgo para la obesidad, la diabetes y el síndrome metabólico, expresiones de las Enfermedades Crónicas No Transmisibles (ECNT) (26,27).

**Tabla 2C.** Azúcares. Gran aumento en el consumo de azúcares simples adicionados a los alimentos; los alimentos procesados ricos en azúcar son hoy una fracción importante de la base energética de la dieta. En este grupo, los helados son los que más aumentan su disponibilidad, seguido por las mermeladas y afines. Los helados aumentan casi catorce veces (1459%) en el quintil II y un 155% en el quintil V9. La diferencia en la disponibilidad por quintiles esta determinada por el factor precio, la que fue ajustada respecto a variedades

de productos por quintil. A pesar, de la disminución del azúcar en todos los quintiles, a excepción del III quintil, que aumenta un 2%, la disponibilidad de azúcar, per cápita día (45g) representa alrededor del 10% de las recomendaciones en energía para la población adulta sedentaria (1800 kcal) (28). La evidencia actual es que el consumo de azúcar en poblaciones urbanas sedentarias características del Chile actual, se asocia a mayor prevalencia de obesidad y diabetes.

**Bebidas gaseosas y jugos.** El explosivo aumento en el gasto por bebidas y jugos azucarados, es quizás, el cambio más notable de la dieta de la población chilena, ya pocos beben el agua potable, proveniente de la red pública, esta tendencia, es aun más pronunciada en los quintiles de bajos ingresos. Los jugos de frutas y las bebidas gaseosas tienen los mayores aumentos en la disponibilidad en todos los quintiles. El jugo de fruta se incrementa más de once veces (1120%) para el total de hogares, catorce veces (1458%) en el II quintil; veintitrés veces (2308%) en el III quintil y más de doce veces en el V quintil. Las bebidas gaseosas aumentan un 193% para el total de hogares, variando entre un 275% para el II quintil a un 134% en el V quintil, siendo mayor en los quintiles de menores ingresos. Los jugos en polvo, para preparar jugos líquidos, tienen un incremento de tres veces (307%) para el total de hogares, variando de más de tres veces en los quintiles I al IV a dos veces (227%) en el V quintil. Estos productos son hoy día considerados un factor de riesgo para la obesidad, los que representan un consumo aparente de alrededor de 70 g de azúcar simple de alto índice y alza glicémica, provocando una respuesta insulínica que promueve el acúmulo de reservas de energía en tejido adiposo.

TABLA 2C  
Disponibilidad de alimentos por hogar y sus cambios. 1988-1997. Total Hogares y Quintiles de Ingreso.  
Gran Santiago (g y %)

	TH		TH		Q I		Q I		QII		QII		QIII		QIII		QIV		QIV		QV		QV							
	87-88	96-97	87-88	96-97	87-88	96-97	87-88	96-97	87-88	96-97	87-88	96-97	87-88	96-97	87-88	96-97	87-88	96-97	87-88	96-97	87-88	96-97	87-88	96-97						
	g/h	g/p	g/h	g/p	%h	g/h	g/p	g/h	g/p	%h	g/h	g/p	g/h	g/p	%h	g/h	g/p	g/h	g/p	%h	g/h	g/p	g/h	g/p						
<b>AZUCARES</b>																														
Azúcar	5364	44	5094	45	-5	4270	43	4197	46	-2	5198	42	4954	43	-5	5442	42	5556	45	2	6074	45	5862	47	-3	5831	45	4901	41	-16
Mermeladas	653	5	952	8	46	361	4	515	6	43	358	3	663	6	85	498	4	777	6	56	744	6	1088	9	46	1304	10	1721	14	32
Chocolates/dulces	399	3	421	4	6	107	1	154	2	43	175	1	165	1	-6	286	2	324	3	13	479	4	458	4	-4	945	7	921	8	-3
Helados	879	7	3887	34	342	139	1	2089	23	1405	211	2	3292	29	1459	590	5	3477	28	489	1115	8	4015	32	260	2160	17	5508	46	155
<b>BEBIDAS NO ALCOHOLICAS</b>																														
Bebidas gaseosas	9415	77	27576	242	193	3552	36	14721	163	314	6386	52	23941	210	275	8639	67	31329	255	263	11978	89	34924	277	192	16528	128	38656	322	134
Jugo en polvo	221	2	900	8	307	118	1	544	6	360	183	1	804	7	339	210	2	913	7	335	238	2	1081	9	354	354	3	1158	10	227
Jugo fruta	72	1	1120	10	1458	20	0,2	363	4	1676	28	0,2	583	5	2000	32	0,2	781	6	2307	76	1	1163	9	1435	203	2	2710	23	1234

**Tabla 2D.** Comidas Preparadas para llevar al hogar y fuera del hogar. Las empanadas, el pollo asado, las papas fritas y los almuerzos son los más representativos, respectivamente. Ambos grupos adquieren una alta ponderación en el gasto de los hogares en la VE, a excepción de los quintiles más ricos que incrementan su gasto en la IV E. El pollo asado, experimenta un incremento de casi ocho veces para el total de hogares (797%) y casi 17 veces para el II quintil (1764%) y un 211% en el V quintil. Las papas fritas, a su vez, aumentan un 242% para el total de hogares; 587% en el II quintil y un 154% en el V quintil. En resumen, hoy en día son un gasto importante en los hogares, siendo mayor en los más ricos. Las comidas preparadas para llevar al hogar representan entre un 2,1 % del gasto en alimentos para el quintil IV y un 6,4% para el quintil V, en estos productos predominan los ricos en grasas y azúcares, con alta densidad de energía y pobres en

micronutrientes, de esta forma, se promueve la obesidad y el déficit de calcio, hierro y zinc. Las comidas fuera del hogar varían entre un 10% del gasto en alimentación para el total de hogares a un 17,7% en el quintil V, con una tendencia creciente, mayor que los alimentos preparados para llevar al hogar. Los efectos de estas comidas, en especial, aquellas asociadas con la colación/almuerzo laboral son de especial preocupación, ya que la densidad energética es muy alta en relación a las necesidades, contribuyendo a la epidemia de obesidad, tanto de las comidas y las bebidas que hoy se presentan como un par inseparable en los menú de la oferta laboral. Esta tendencia en la calidad de los dieta de los chilenos es difícil de evaluar, sin embargo, la evidencia disponible sugiere que juegan un rol preponderante en los cambios epidemiológicos en Chile, en los últimos 15 años (29).

TABLA 2D  
Disponibilidad de alimentos por hogar y sus cambios. 1988-1997. Total Hogares y Quintiles de Ingreso.  
Gran Santiago (g y %)

	TH		TH		Q I		Q I		QII		QII		QIII		QIII		QIV		QIV		QV		QV							
	87-88	96-97	87-88	96-97	87-88	96-97	87-88	96-97	87-88	96-97	87-88	96-97	87-88	96-97	87-88	96-97	87-88	96-97	87-88	96-97	87-88	96-97	87-88	96-97						
	g/h	g/p	g/h	g/p	%H	g/h	g/p	g/h	g/p	%H	g/h	g/p	g/h	g/p	%H	g/h	g/p	g/h	g/p	%H	g/h	g/p	g/h	g/p						
<b>COMIDAS PREPARADAS PARA LLEVAR AL HOGAR</b>																														
Empanadas	399	3	646	6	62	112	1	364	4	226	229	2	596	5	161	344	3	798	6	132	408	3	799	6	96	903	7	1241	10	37
Pollo asado	37	0,3	332	3	797	9	0,1	63	1	590	9	1	156	8	1674	21	0,2	200	2	837	43	0,3	306	2	616	100	1	312	3	211
Papas fritas en porciones	25	0,2	84	1	242	9	0,1	27	0,3	197	9	2	61	2	587	20	0,2	79	1	285	28	0,2	108	1	289	57	0,4	147	1	159
Plato preparado	20	0,2	101	1	397	8	0,1	25	0,3	199	4	1	25	3	462	3	0,0	42	0,3	1294	13	0,1	87	1	549	80	1	341	3	329

## DISCUSION

Disponibilidad por gasto en alimentos. Esta metodología permite una mayor aproximación a los alimentos que conforman el patrón alimentario de los hogares, la que no está exenta de limitaciones. La estimación se basa en calcular las unidades físicas de los alimentos a través de la relación gasto y precio de los alimentos; se asume que la tasa de gasto es equivalente a la tasa de disponibilidad de alimentos, la que se distribuye en forma equitativa entre sus miembros, sin considerar edad, estado fisiológico, pérdidas de alimentos o sobrante de preparaciones y otros usos.

**Precios.** Corresponden a precios representativos del promedio de los hogares. El precio está determinado, entre otros factores, por la calidad nutricional, (por ejemplo, tenor de grasas) y lugar de compra. Los precios promedios, subestiman el gasto de los quintiles de menores ingresos y sobreestima el de los mayores ingresos. Estos antecedentes, hicieron necesario desarrollar una metodología especial y a criterio de uno de los autores, MC, que considerara elementos de mercado para ajustar precios de una canasta de productos ya descrita, para construir precios diferenciados por quintil de ingreso. A modo de ejemplo; pan; el INE registra precios para tres variedades de pan; corriente, especial y de molde. El gasto en pan por quintil es diferente y está determinado por el ingreso, el precio y punto de compra. Se definió, que los quintiles pobres gastan más en pan corriente, que tiene un menor precio, y los más ricos gastan más en pan especial y de molde que tienen un mayor precio, lo que determina precios diferentes por quintil. Este procedimiento se aplicó a cada producto seleccionado, obteniendo precios ajustados por quintil. En el pan, el precio varió un 9,3% entre el quintil I y el quintil V. Este método tiene sus limitaciones; está supeditado al criterio del investigador, el que determina la proporción que los quintiles gastan en variedades de un mismo producto. Los productos seleccionados representan el 44,6% en el promedio hogar; un 52,3% en el quintil II y 38,8% en el quintil V del gasto en alimentos.

**Ingreso y nivel socioeconómico.** El ingreso per cápita aumentó de US\$ 1907 en 1988 a US\$ 5663 en 1997 y, el ingreso mínimo de 14.080 en 1988 a 71.400 pesos en 1997 (30,31). La pobreza varió de 45,1% a 21,7%, y la pobreza extrema de 12,9 a 5,6%, siendo hoy de un 13,7% y 3,2%, respectivamente (32-35).

**Disponibilidad de alimentos.** Los resultados de este estudio indicaron cambios, especialmente en los más pobres. Destaca el incremento en cereales procesados, productos de pastelería, carnes de ave y cerdo y mayor diversificación, lácteos procesados, jugos preparados y bebidas, crema,

mayonesa, azúcares, helados, bebidas alcohólicas, comidas preparadas para llevar al hogar y fuera del hogar, la disminución leve en pescados, frutas y verduras y alta en legumbres.

La dieta del chileno ha variado negativamente con un incremento en la disponibilidad de productos de origen animal y procesados, grandes aportadores de calorías grasas, grasas saturadas y azúcares simples de alto índice glicémico y densidad energética y, baja en antioxidantes, fitoquímicos, fibra y ácidos grasos omega 3.

Lo expuesto anteriormente, debe considerarse en relación con los cambios epidemiológicos en el país. La obesidad, ha aumentando en toda la población; estudios representativos empezaron a mostrar esta tendencia a mediados de los ochenta. En adultos, la encuesta sobre factores de riesgo aplicada en la Región Metropolitana en 1988 y 1992 (IMC mayor de 30 Kg/m<sup>2</sup>) varió de un 6% a 10,9% en hombres y de 14% a 24,4% en mujeres, respectivamente. En 1996, la encuesta de base del Programa CARMEN (Conjunto de Acciones para la reducción Multifactorial de las Enfermedades no transmisibles), la prevalencia fue de 19,7%; en la Encuesta Nacional de Salud del 2003, del 22% y 38% para el sobrepeso y un significativo aumento en hipertensión, hipercolesterolemia. (36, 37). La Organización Mundial de la Salud, (OMS), ha declarado que la sobrealimentación equivale a una epidemia mundial con más de mil millones de personas adultas con sobrepeso, de ellas, al menos 300 millones clínicamente obesas.

En niños de primer año básico, la Junta Nacional de Auxilio Escolar y Becas (JUNAEB) mostró que entre 1987 y 1996 la obesidad varió de 6,5% a 13,4% en hombres y de 7,8% a 15% en mujeres, llegando al 18% en el 2006. (38). La obesidad infantil es el mayor problema nutricional de la clase media y baja en el país.

Los cambios observados, asociados además al sedentarismo han impactando el perfil epidemiológico y nutricional del país, con aumento de las enfermedades cardiovasculares, cánceres y ECNT (39,40).

Estimar la disponibilidad de alimentos permite aproximarse a las dietas de los hogares para caracterizarlas, identificar los cambios, evaluar sus carencias o excesos, el patrón nutricional y la relación con el estado nutricional y perfil epidemiológico. En base a esto, se deben establecer políticas de promoción de alimentos saludables y cuando sea necesario las regulaciones y etiquetado correspondiente para controlar el consumo de alimentos con potencial efecto adverso sobre la salud. El objetivo final es facilitar la opción saludable en la selección de alimentos. Lamentablemente, los alimentos menos saludables son los que más se promueven en los medios masivos de comunicación. Hoy, existe un marco claramente definido por la OMS, de que nutrientes deben aumentarse y cuales restringirse, para así ganar años de vida saludables (41).

## REFERENCIAS

1. Crovetto M. Cambios en la estructura alimentaria y consumo aparente de nutrientes de los hogares del Gran Santiago 1988-1997. *Rev Chil Nutr.* 2002; 29(1): 24-32 Disponible en: [www.scielo.cl](http://www.scielo.cl) [consultado el 23 de marzo 2007]
2. Cabezas M. Cambios en la estructura de consumo alimenticio en Chile 1969-1988. Santiago, Chile: Febrero 1991. Documento de trabajo PET N° 82.
3. Crovetto M. La canasta básica de alimentos en la política alimentaria y nutricional de Chile. Tesis para optar al grado de Magíster de Planificación en Alimentación y Nutrición. Santiago, Chile: Universidad de Chile, INTA, 1993.
4. Espinosa F. Sistema de Vigilancia Alimentaria Nutricional de alimentos: índice. Consumo de alimentos y cambios de hábitos alimentarios. Santiago, Chile: Universidad de Chile, INTA, 1998.
5. Schjtman A. Economía política de los sistemas alimentarios en América Latina. Santiago, Chile: ONU/OREALC, 1994.
6. Instituto Nacional de Estadísticas (Chile). III Encuesta de presupuestos familiares 1977-1978. v.3 Estructura del gasto de los hogares del Gran Santiago por grupos quintil de hogares. Santiago, Chile: INE, 1979.
7. Instituto Nacional de Estadísticas (Chile). IV Encuesta de presupuestos familiares 1987-1988. v.3 Estructura del gasto de los hogares del Gran Santiago por grupo quintil de hogares. Santiago, Chile: INE, 1989.
8. Instituto Nacional de Estadísticas (Chile). V Encuesta de presupuestos familiares 1996-1997. v.3 Estructura del gasto de los hogares del Gran Santiago por grupo quintil de hogares. Santiago, Chile: INE, 1999.
9. Instituto Nacional de Estadísticas (Chile). Serie de precios. Índice de precios al consumidor (IPC). Serie 1986-1999. Santiago: Chile: INE, 1999
10. Instituto Nacional de Estadísticas (Chile). Índice de precios al consumidor( IPC) base diciembre 1998=100. Aspectos metodológicos. Santiago, Chile: INE, 1999.
11. Juri G, Urteaga C, Taibo M. Porciones de intercambio y composición química de los alimentos de la pirámide alimentaria chilena. Santiago, Chile: Universidad de Chile, 1997.
12. Schimdt-Hebbel H., Pennacchiotti I., Masson L, Mella M. Tabla de composición química de alimentos chilenos. Santiago, Chile: Universidad de Chile, 1992.
13. Venezuela. Ministerio de Sanidad y Asistencia Social. Tabla de composición de alimentos para uso práctico. Caracas: Ministerio de Sanidad, 1999.
14. Nestlé. Composición química de los alimentos. Santiago, Chile: NESTLÉ, 2000.
15. Masson L, Mella M. Materias grasas de consume habitual y potencial en Chile. Santiago, Chile: Universidad de Chile, 1985. Disponible en: [http://mazinger.sisib.uchile.cl/repositorio/lb/ciencias\\_quimicas\\_y\\_farmacologicas/massonl01/](http://mazinger.sisib.uchile.cl/repositorio/lb/ciencias_quimicas_y_farmacologicas/massonl01/) [Consultado el 2 de mayo 2007]
16. Comisión Económica para América Latina y el Caribe. Una estimación de la magnitud de la pobreza en Chile. Santiago, Chile: CEPAL, 1990.
17. Comisión Económica para América Latina y el Caribe. Organización para la Alimentación y Agricultura. Indicadores de disponibilidad y acceso alimentario de los grupos pobres para la vigilancia nutricional. Santiago, Chile: CEPAL/FAO, 1986.
18. Instituto Nacional de Estadísticas (Chile). Censo 2002. Resultados población y vivienda. Santiago, Chile: INE, 2003.
19. Organización Mundial de la Salud. Dieta, nutrición y prevención de enfermedades crónicas. Informe de un Grupo de Estudio de la OMS. Ginebra: OMS, 1990. Serie de Informes Técnicos, 797.
20. Organización Mundial de la Salud. Organización para la Alimentación y Agricultura. Dieta, nutrición y prevención de enfermedades crónicas. Informe de una Consulta Mixta de Expertos. Ginebra: OMS/FAO, 2003. Serie de Informes Técnicos, 916.
21. Kaaks R, Riboli E. Colorectal cancer and intake of dietary fibre. A summary of the epidemiological evidence. *Eur. J Clin. Nutr.* 1995; 49 (Supl.3): 10S -17S.
22. U.S. National Cancer Institute. Diet, Nutrition and Cancer: a guide to food choices. (NIH. Pub 85-2711). Bethesda, Maryland: Public Health Service, 1987.
23. Organización Mundial de la Salud. Organización Mundial para la Alimentación y Agricultura. REPORTE 2003
24. World Health Organization. Global prevalence and secular trends in obesity. Preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation on obesity. Geneva: WHO, 1997.
25. Organización Mundial de la Salud. Organización Mundial para la Alimentación y Agricultura. Un marco para la promoción de frutas y verduras a nivel nacional. Ginebra: OMS/FAO, 2005.
26. World Health Organization. International Diabetes Federation. Report of a WHO/IDF Consultation. Geneva: WHO, 2006.
27. Organización Mundial de la Salud. Informe sobre salud en el mundo: Reducir los riesgos y promover una vida sana. Ginebra, OMS, 2002.
28. FAO/OMS/UNU. Necesidades de energía y de proteínas. Informe de una Reunión Consultiva Conjunta FAO/OMS/UNU de Expertos. Ginebra: OMS, 1985. Serie de Informes Técnicos, 724.
29. Albala C, Vio F, Kain J, Uauy R. Nutrition Transition in Latin America: the case of Chile. *Nutrition Reviews* 2001; 59(6): 170-176.
30. Frigolett H, Sanhueza A. Evolución del gasto en consumo de los hogares en Chile, 1985-1995. Santiago: Mideplan, 1999.
31. Banco Central de Chile. Base de datos Estadísticos. Precios. Tipo de cambio nominal, peso mensual. Tipo de cambio del dólar observado, 1975-2007. Disponible en: [http://si2.bcentral.cl/Basededatos economicos/951\\_455.asp?f=M&s=TC-OBS-MES&idioma=&c=n&d=2](http://si2.bcentral.cl/Basededatos economicos/951_455.asp?f=M&s=TC-OBS-MES&idioma=&c=n&d=2) [Consultado el 2 de marzo 2007]
32. Chile. Ministerio de Planificación. División Social. Pobreza y distribución del ingreso en Chile. (CASEN 1996). Santiago, Chile: MIDEPLAN, 1997.
33. Chile. Ministerio de Planificación. División Social. (CASEN 1998). Santiago, Chile: MIDEPLAN, 1999.
34. Chile. Ministerio de Planificación. División Social. (CASEN 2003). Santiago, Chile: MIDEPLAN, 2004.

35. Chile. Ministerio de Planificación. Casen 2006: Encuesta de Caracterización Socioeconómica Nacional. Chile. Ministerio de Planificación. Santiago, Chile, Mideplan, 2007. Disponible en: <http://www.mideplan.cl/final/categoria.php?secid=25&catid=124> [Consultado el 12 de junio de 2007]
36. Chile. Ministerio de Salud. Programa Carmen. Encuesta de Base. Valparaíso: MINSAL, 1997.
37. Vio F, Albala C, Crovetto M. Promoción de la salud en la transición epidemiológica de Chile. Rev. Chil. Nutr. 2000; 27(1): 21-29.
38. Junta nacional de auxilio escolar y becas. Chile. Situación nutricional de los escolares chilenos de 1° Básico. Santiago, Chile: JUNAEB, 2005. Disponible en: [http://sistemas.junaeb.cl/estadosnutricionales\\_2006/index2.php](http://sistemas.junaeb.cl/estadosnutricionales_2006/index2.php) [consultado el 2 de mayo 2007]
39. Chile. Ministerio de Salud. Encuesta Nacional de Salud 2003. (ENS). Informe final. Santiago, Chile: MINSAL, 2004
40. Chile. Ministerio de Salud. Pública. Situación de salud. Compilación de documentos. Santiago, Chile: MINSAL, 2002.
41. Organización Mundial de la Salud. Estrategia Mundial sobre régimen alimentario, actividad física y salud. 57ª Asamblea Mundial de la Salud. Ginebra. OMS, 2004.

Recibido: 26-09-2007

Aceptado: 29-01-2008

## Percepción diferenciada de salsa de tomate transgénica en el sur de Chile

*B. Schnettler Morales, O. Sepúlveda Bravo, D. Ruiz Fuentes y M. Denegri Coria*

Departamento de Producción Agropecuaria, Facultad de Ciencias Agropecuarias y Forestales. Universidad de La Frontera, Departamento de Psicología, Facultad de Educación y Humanidades. Universidad de La Frontera. Chile

**RESUMEN.** Considerando el debate generado por los alimentos genéticamente modificados en los países desarrollados, se estudió la importancia de esta variable en la compra de salsa de tomate en consumidores de Temuco (Región de La Araucanía, Chile) y la existencia de diferentes segmentos de mercado, mediante una encuesta personal a 400 personas. Utilizando análisis conjunto se determinó, en general, que la presencia de modificación genética en el alimento fue más importante que la marca y el precio en la compra. Mediante análisis de conglomerados jerárquicos se distinguieron tres segmentos, el más numeroso (49,3%) dio mayor importancia a la presencia de manipulación genética (MG) en el alimento y rechaza el producto transgénico. El segundo grupo (39,4%) asignó mayor relevancia a la marca y prefiere salsa de tomate con ingredientes genéticamente modificados. El segmento minoritario (11,3%) presentó la mayor valoración del precio y prefiere salsa de tomate transgénico. Los tres segmentos prefieren el producto de marca nacional, rechazan la marca propia y reaccionan positivamente a menores precios. El segmento sensible a la presencia de MG en el alimento, estuvo constituido en mayor proporción por personas menores de 35 años, solteros y pertenecientes a hogares sin hijos. La ausencia de MG en alimentos de origen vegetal es una condición deseable para consumidores jóvenes de la Región de La Araucanía, pero una proporción importante (50,7%) acepta la manipulación genética en el alimento.

**Palabras clave:** Alimentos genéticamente modificados, salsa de tomate, análisis conjunto, análisis de conglomerados jerárquicos, Chile, alimentos transgénicos.

### INTRODUCCION

Un alimento transgénico o genéticamente modificado (AGM) se define como aquél cuyos ingredientes incluyen un organismo genéticamente modificado, el cual a su vez es cualquier vegetal, animal u organismo cuyo material genético ha sido modificado por el hombre de manera intencional (1). En los alimentos transgénicos, lo que se hace es buscar, en un ser vivo (animal, planta, bacteria o virus) un gen que codifique una proteína; como podría ser una enzima que intervenga en la maduración de los frutos o en la producción de un compuesto

**SUMMARY. Differentiated perception of transgenic tomato sauce in the southern Chile.** The present study considers the debate generated in developed countries by genetically modified foods, the importance of this variable to consumers in Temuco (Araucanía Region, Chile) when purchasing tomato sauce and different market segments were studied through a personal survey administered to 400 people. Using conjoint analysis, it was determined that the presence of genetic modification in food was generally more important than the brand and purchase price. Using cluster analysis, three segments were distinguished, with the most numerous (49.3%) placing the greatest importance on the presence of genetic modification (GM) in food and rejecting the transgenic product. The second group (39.4%) gave the greatest importance to the brand and preferred tomato sauce with genetically modified ingredients. The smallest segment (11.3%) placed the greatest value on price and preferred transgenic tomato sauce. The three segments prefer the national brand, reject the store brand and react positively to lower prices. The segment sensitive to the presence of GM in food comprised mainly those younger than 35 years of age, single and with no children. The absence of GM in food of vegetable origin is desirable for young consumers in the Araucanía Region, but a significant proportion accepts genetic modification in food (50.7%).

**Key words:** Genetically modified foods, tomato sauce, conjoint analysis, cluster analysis, Chile, transgenic foods.

inhibidor de multiplicación viral o de una característica estructural u organoléptica, confiriéndole un aumento del contenido de un nutriente o una mayor tolerancia a un herbicida. Este gen se introduce en el material genético del alimento que se desea mejorar o modificar. Con esto se obtienen las características finales deseadas; como aumento del rendimiento y tolerancia a herbicidas (algunos ejemplos corresponden a soya, maíz, canola), mejora de las características nutricias (arroz y papa dorada), mejoras en las características organolépticas (bloqueo del gen que codifica la poligalacturonasa en tomate para reducir la proporción de pectina hidrolizada, evitando maduración excesiva y mejorando la viscosidad de la pulpa), entre otros; sin tener que pasar por los lentos procesos de selección y cruces que se

Apoyo financiero: Dirección de Investigación Universidad de La Frontera, Proyecto DIUFRO 120601.

realizan tradicionalmente (2). Desde 1996 la tolerancia a los herbicidas ha sido dominante dentro de los cultivos genéticamente modificados con 69,9 millones de hectáreas en 2006 en el ámbito mundial, seguido de la resistencia biotecnológica a los insectos con 19,0 millones de hectáreas y los rasgos de genes apilados (dos o tres rasgos biotecnológicos en una misma variedad, tolerancia a herbicidas y resistencia a insectos) con 13,1 millones de hectáreas (3). No existe en el mundo una política común en cuanto a este tipo de alimentos. En Chile la única normativa específica respecto a transgénicos se encuentra en una Resolución del Servicio Agrícola y Ganadero (SAG) sobre Normas y Regulación de Liberación de Transgénicos (Resolución N° 1.927 de 1993 del SAG, actualizada por la N° 1.523 de 2001). Según este decreto, sólo se autoriza en Chile la entrada de semillas transgénicas para multiplicación con fines de exportación. No se permite liberación de transgénicos para consumo. La Ley de Bases Generales del Medio Ambiente, considera la liberación de transgénicos como actividad que debe someterse a un estudio de impacto ambiental obligatorio, pero no se aplica (1). En Chile se cultivaron 6.500 ha de transgénicos en 2001, 80% de las cuales corresponden a maíz (*Zea mays*) (1), mientras en 2006 se registraron aproximadamente veinte mil hectáreas destinadas a producir semillas transgénicas (3), lo que implica un aumento de 207% en el periodo. Otros cultivos involucran soya (*Glycine max*), tomate (*Lycopersicon esculentum*), papa (*Solanum tuberosum*), remolacha (*Beta vulgaris*), trigo (*Triticum aestivum*), canola (*Brassica napus*), melón (*Cucumis melo*), tabaco (*Nicotiana tabacum*), zapallo (*Cucurbita maxima*) y maravilla (*Helianthus annuus*). No obstante, Chile está actualmente importando alimentos transgénicos, particularmente maíz y soya de Argentina y Estados Unidos. Se desconoce con exactitud la cantidad de transgénicos que está entrando, pues los granos llegan mezclados con aquellos no transgénicos y los productos elaborados no vienen etiquetados (1).

Durante los últimos años, se ha desatado un conflicto en relación con los riesgos y beneficios del consumo de los AMG para salud humana (2). En una sociedad democrática, las personas no consumirán alimentos que asocien con algún atributo negativo. Varios factores pueden contribuir en la percepción negativa del alimento. Asociada a los AGM está la creencia de un potencial impacto negativo en el medio ambiente, como la aparición de malezas resistentes (4) y daño a las especies silvestres de plantas (2); la posibilidad de efectos negativos en la salud humana, como el desarrollo de alergias (2,4), resistencia a los antibióticos, pérdida o modificación del valor nutricional de los alimentos, presencia de compuestos tóxicos (2); o la desconfianza generada por el insuficiente conocimiento científico de sus efectos (2,5). En efecto, todavía no hay suficientes datos publicados acerca de la posible toxicidad del consumo a largo plazo de los alimentos transgénicos.

Numerosos estudios dan cuenta de la preferencia del consumidor por alimentos sin manipulación genética y rechazo hacia los transgénicos (6-11). No obstante, la resistencia a la introducción de modificaciones genéticas no es universal (12). Las actitudes respecto a la biotecnología dependen sobre que organismo se aplica y el tipo de modificación realizada (13,14). Modificaciones genéticas en plantas o microorganismos son más aceptadas que las modificaciones relacionadas con animales (14), como el uso de AGM en alimentación animal (15). Asimismo, es más aceptada una modificación tendiente a reducir el uso de pesticidas en la producción de alimentos que si la modificación implica una reducción de los costos (16). La actitud del consumidor hacia los AGM está determinada por el riesgo y beneficios percibidos, los que se encuentran determinados por el conocimiento que se tiene sobre los AGM (17-19). Beneficios sustanciales, como un menor precio (20,21,18,22), un mayor valor nutritivo (23,6,24) o beneficios para la salud o para el medio ambiente (25,12), compensarían el riesgo percibido resultando en una actitud positiva hacia los transgénicos. En forma paralela, los consumidores están más dispuestos a comprar AGM de marcas conocidas respecto de alimentos transgénicos genéricos, porque las marcas conocidas les brindan confianza (17). El nivel de confianza es muy relevante para la aceptación de los AGM, puesto que altos niveles de desconfianza aumentan la percepción de riesgo y disminuyen la aceptación del consumidor (26). Por otra parte, mientras algunas investigaciones dan cuenta de una mayor disposición a adquirir alimentos transgénicos en hombres y personas de mediana edad (23,6,27, 7,17,18), un mayor rechazo en personas mayores y con menor nivel educacional (11,28), otras indican que la aceptación de los alimentos transgénicos no posee relación con las características socioeconómicas y demográficas de los consumidores (29,30).

Con base en estos antecedentes el objetivo de este estudio fue determinar la importancia relativa de atributos relevantes del producto (precio, marca) y la condición de transgénico en la decisión de compra de un alimento de origen vegetal y, distinguir diferentes segmentos de población en la ciudad de Temuco, capital de la Región de La Araucanía, Chile. Para tal propósito se escogió como producto la salsa de tomate, debido a que las primeras liberaciones de transgénicos en Chile contemplaron además de canola, tomate transgénico provenientes de semillas importadas (31).

## METODOS

Se realizó una encuesta personal a una muestra de 400 consumidores mayores de 18 años de la ciudad de Temuco, capital de la Región de La Araucanía Chile, cuyo número se obtuvo mediante la fórmula de muestreo aleatorio simple para

poblaciones no finitas ( $N > 100.000$ ; Temuco: 245.347 habitantes totales al Censo de 2002,  $38^{\circ}45'S$ ,  $73^{\circ}03'W$ ), considerando 95% de confianza, 5% de error de estimación y dispersión máxima ( $p = q = 0,5$ ), lo que implica esperar el mayor nivel de variación de la opinión del colectivo total sobre el tema analizado respecto al valor medio (32). Como instrumento de recogida de información se utilizó un cuestionario con preguntas cerradas respecto a si el encuestado había recibido información de AGM, si conocía su significado y la frecuencia de lectura de las etiquetas de los alimentos que compra. A continuación, se les leyó la siguiente definición de alimento genéticamente modificado: “los alimentos transgénicos son aquellos a los cuales se les ha introducido en forma artificial un gen foráneo a nivel de embrión, de modo que al reproducirse mantengan esta nueva característica, para por ejemplo durante su cultivo eliminar el uso de pesticidas, fungicidas y herbicidas”, y se les consultó si consideraban necesario que el etiquetado indique que el alimento contiene ingredientes genéticamente modificados. Se incluyeron preguntas de clasificación de los encuestados: género, edad, zona de residencia, estado civil, presencia de hijos y su edad, ocupación y estudios del jefe de hogar y, la tenencia de 10 bienes domésticos, estas dos últimas variables para determinar el grupo socioeconómico correspondiente a ABC1 (alto y medio alto), C2 (medio-medio), C3 (medio-bajo), D (bajo) y E (muy bajo) (33). La encuesta fue aplicada al azar por dos encuestadores previamente entrenados (alumnos de tercer año de la carrera de Agronomía, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile) en dos supermercados de Temuco entre abril y junio de 2006, posterior a la validación del cuestionario mediante un pretest con 10% de la muestra. Durante el pretest se puso especial énfasis en determinar si las personas entendían la definición dada de alimentos genéticamente modificados, obteniéndose un resultado satisfactorio. La aplicación de la encuesta fue supervisada por la investigadora responsable para evitar la inducción de respuestas por parte de los encuestadores.

Para determinar la importancia de la condición de transgénico en la decisión de compra de un alimento, se utilizó análisis conjunto (AC), que corresponde a una técnica multivariada que se utiliza específicamente para entender cómo los encuestados desarrollan preferencias acerca de productos o servicios (34). Este método descomposicional permite estimar la importancia relativa de los atributos de un producto y, estimar valores parciales de utilidad para cada nivel de un atributo (35). Los valores parciales de utilidad estimados indican cuán influyente es cada nivel de un atributo en la formación de preferencias de los consumidores para una combinación en particular, es decir, representan el grado de preferencia por cada nivel de cada atributo (34). En el ámbito alimentario, desde principios de los noventa el AC ha sido empleado en diferentes investigaciones, dentro de las cuales algunas recientes corresponden a Orth y Firsová (36) y

Schnettler, Ruiz, Sepúlveda y Sepúlveda (37) para determinar la importancia del origen en el consumo de alimentos y, Baker y Burnham (28) de manera similar para evaluar la aceptación de cereales para el desayuno con ingredientes genéticamente modificados. El AC mide el efecto asociado de dos o más variables independientes en la variable dependiente (38), en términos de la preferencia o utilidad que el consumidor experimenta frente a diferentes combinaciones de un producto o servicio ofrecido. El AC descompone el conjunto de respuestas dadas frente a un diseño factorial de distintos niveles de diferentes atributos de un producto, a través de lo cual se puede inferir la preferencia percibida o valor parcial de utilidad de cada estímulo a partir de la evaluación que el encuestado hace del nivel del atributo (39). Este planteamiento se basa en la teoría económica de la elección del consumidor, en la cual las preferencias del consumidor pueden ser medidas en términos de la utilidad que proporciona cada atributo individual de un producto (38).

El AC fue utilizado para determinar la importancia de los atributos presencia o ausencia de manipulación genética, marca y precio en la compra de salsa de tomate, de forma de evaluar la importancia de la existencia de modificación genética en el consumo de un alimento de origen vegetal. Para el primer atributo se definieron los niveles: transgénico y no transgénico. Dentro de marca se definió marca nacional y marca propia; entendiéndose como marca propia o privada aquella creada para, controlada por y/o vendida por los minoristas, mientras un producto de marca vendido por el fabricante a través de minoristas es una marca nacional (40). Como marca nacional se usó Malloa, que tiene más de 20 años de presencia en los hogares chilenos (41), y como marca propia se indicó solamente “marca del supermercado” sin especificar un distribuidor específico. Los niveles de precio fueron establecidos en base al precio promedio del mercado de Temuco al momento de la encuesta (US\$0,311/envase de 200 g de salsa de tomates), sobre el cual se adicionó y restó aproximadamente 10%, obteniéndose los niveles: US\$0,339/envase de 200 g y US\$0,283/envase de 200 g. Los valores en moneda nacional (\$ chilenos) fueron convertidos a dólares usando el valor promedio de 2006 ( $\$530,2/\text{US\$}$ ) (42). A partir de estos atributos y niveles se obtuvieron ocho combinaciones ( $2 \times 2 \times 2$ ) identificadas con una letra desde la A hasta la H: A) salsa de tomate transgénica-Malloa-US\$0,339/200 g, B) transgénica-Malloa-US\$0,283/200 g, C) transgénica-marca propia-US\$0,339/200 g, D) transgénica-marca propia-US\$0,283/200g, E) no transgénica-Malloa-US\$0,339/200 g, F) no transgénica-Malloa-US\$0,283/200 g, G) no transgénica-marca propia-US\$0,339/200 g y, H) no transgénica-marca propia-US\$0,283/200 g. La función de preferencia correspondió al Modelo de Punto Ideal (34). Para la recogida de datos se usó el procedimiento de perfil total, para lo cual se elaboraron ocho tarjetas en forma respectiva, con una especificación para cada atribu-

to. A los encuestados se les solicitó que ordenaran las tarjetas desde la más preferida hasta la menos preferida usando una escala de 1 a 8 (1 = más preferida; 8 = menos preferida).

### Análisis estadístico

Para la estimación de los valores parciales de utilidad, se utilizó un modelo conjunto de tipo aditivo (34). Considerando los atributos evaluados en esta investigación, la preferencia global o utilidad total de una combinación ( $P$ ) se puede expresar a través del siguiente modelo:

$$P = U_{\text{manipulación genética}_i} + U_{\text{marca}_j} + U_{\text{precio}_k} + \text{constante} \quad (1)$$

Donde:  $U_i$  manipulación genética = Utilidad del nivel  $i$  para el atributo manipulación genética,  $U_j$  marca = Utilidad del nivel  $j$  para el atributo marca,  $U_k$  precio = Utilidad del nivel  $k$  para el atributo precio.

Para el atributo precio, se estableció una relación lineal, debido a generalmente a mayor precio la utilidad o preferencia es menor. Los atributos restantes fueron considerados como variables discretas. Por lo tanto, para la estimación de los valores parciales de utilidad se formuló el siguiente modelo:

$$P_i = \beta_0 + \beta_1 T + \beta_2 NT + \beta_3 M_{na} + \beta_4 M_{pr} + \beta_5 P_1 + \beta_6 P_2 + e_i \quad (2)$$

Donde:  $P_i$  representa el orden de preferencia establecido por el  $i$ -ésimo individuo consultado,  $T$  es la variable con manipulación genética,  $NT$  es la variable sin manipulación genética,  $M_{na}$  es la variable marca nacional,  $M_{pr}$  es la variable marca propia,  $P_1$  es la variable precio US\$0,283/envase de 200 g,  $P_2$  es la variable precio US\$0,339/envase de 200 g,  $\beta_0$  es la constante de la regresión;  $\beta_1, \beta_2, \beta_3, \beta_4, \beta_5, \beta_6$  son los valores parciales de utilidad asociados a los niveles de cada atributo y,  $e_i$  es el error de estimación.

Valores parciales de utilidad más altos indican mayor preferencia por parte del consumidor, y viceversa, valores más bajos menor preferencia o rechazo en el caso de valores parciales de utilidad negativos. Dado que las estimaciones de los valores parciales de la utilidad están en una escala común, la importancia de cada atributo se define en términos del rango de valores parciales en todos los niveles de ese atributo, dividido por la suma de los rangos para todos los factores. La importancia relativa del atributo se normaliza con la finalidad de determinar la importancia relativa de los otros atributos (34). Para determinar la bondad de ajuste del modelo se utilizó correlación de Pearson y, se usó la Tau de Kendall para determinar si la ordenación de los estímulos estimada según la función de ordenación corresponde con la ordenación real del encuestado (34).

El estudio de segmentación de consumidores y por tanto el método para construir tipologías y perfiles de consumo no tiene un enfoque único. En una primera aproximación, los consumidores pueden ser segmentados de acuerdo a sus características, como las demográficas, (basadas en el juicio del investigador) o desde un enfoque post hoc (basadas en técnicas como el análisis de conglomerados jerárquicos) Alternativamente, los consumidores pueden ser segmentados según las preferencias obtenidas mediante encuesta o preferencias reveladas a partir de elecciones realizadas. Los segmentos pueden ser formados en base al juicio de los investigadores o por métodos post hoc, como ocurre al aplicar análisis de conglomerados jerárquicos sobre las utilidades obtenidas con análisis conjunto (43). De esta forma, para determinar segmentos de consumidores según la importancia y utilidad (preferencia o rechazo) de la existencia de manipulación genética en el alimento, marca y precio obtenidos con análisis conjunto, se usó análisis de conglomerados jerárquicos, con el método de Ward como forma de encadenamiento y con la distancia euclídea al cuadrado como medida de similitud entre objetos (34). El número de grupos se obtuvo mediante observación del dendrograma y fue confirmada con la determinación del porcentaje de cambio de los coeficientes de conglomeración recompuestos Para describir los segmentos se aplicó test de Chi<sup>2</sup> para las variables discretas ( $P \leq 0,001$  ó  $P \leq 0,05$ ) que permite inferir si dos o más magnitudes de frecuencias de casos de la población pueden ser consideradas similares (44), y análisis de varianza de un factor para los valores de importancia de los atributos y utilidades de los niveles de los atributos, con un nivel de confianza de 99%. Las variables cuyo análisis de varianza dio como resultado diferencias significativas ( $P \leq 0,001$ ), fueron sometidas a la Prueba de Comparaciones Múltiples de Tukey (45). Se usó el programa SPSS 14.0 (SPSS.Inc., USA) para Windows, que para análisis conjunto presenta el modelo de estimación de parámetros correspondiente a MANOVA.

## RESULTADOS

La Tabla 1 presenta la descripción porcentual de la muestra de consumidores encuestados y los resultados generales sobre el conocimiento de los AGM y actitud hacia el etiquetado de los alimentos. Si bien la distribución por género fue prácticamente similar en la muestra, predominaron los consumidores con edades entre 35 y 54 años, pertenecientes a familias formadas por tres a cuatro integrantes, sin hijos o con hijos entre 13 y 17 años, agricultores y trabajadores independientes, casados y de los grupos socioeconómicos de mayores ingresos. Aproximadamente, 60% de los encuestados indicó haber recibido algún tipo de información sobre AGM, pero sólo una cifra inferior a 30% sabía su significado. Respecto al etiquetado, fueron mayoritarias las proporciones de consumidores que indicaron leer las etiquetas

“generalmente” y “ocasionalmente”, mientras la mayoría estuvo de acuerdo en que la etiqueta debe indicar el uso de ingredientes genéticamente modificados en la elaboración del alimento.

TABLA 1

Descripción porcentual de la muestra de compradores habituales de supermercados de la ciudad de Temuco, Chile, conocimiento de AGM y actitud hacia el etiquetado de los alimentos. Junio de 2006

Muestra	Composición Muestra total (n = 400)	
Género	Femenino	51,8
	Masculino	48,2
Edad	< de 35 años	33,2
	35-54 años	45,3
	55 años o más	21,5
Tamaño de la familia	1-2 integrantes	8,0
	3-4 integrantes	66,2
	5 ó más	25,8
Presencia y edad hijos	Sin hijos	28,2
	Hijos menores de 5 años	9,0
	Hijos entre 5 y 12 años	10,0
	Hijos entre 13 y 17 años	30,3
	Hijos mayores de edad	22,5
Ocupación	Cuenta propia <sup>1</sup>	22,0
	Empresario <sup>2</sup>	10,4
	Agricultor	29,8
	Empleado particular	19,3
	Empleado público	12,4
	Jubilado	2,3
	Cesante	3,8
Estado civil	Soltero	24,4
	Casado	52,8
	Separado	7,3
	Divorciado	4,3
	Viudo	4,4
	En pareja	6,8
Grupo socioeconómico	ABC1	34,8
	C2	33,0
	C3	17,3
	D	12,7
	E	2,2
Ha recibido información de alimentos transgénicos	Sí	59,0
	No	41,0
Conoce el significado de la palabra transgénico	Sí	26,3
	No	73,7
Frecuencia de lectura etiquetas de los alimentos	Siempre	12,3
	Generalmente	28,8
	Ocasionalmente	31,3
	Casi nunca	20,6
	Nunca	7,0
La etiqueta debe indicar la presencia de ingredientes genéticamente modificados	Sí	99,3
	No	0,7

<sup>1</sup> Trabajador por cuenta propia es la persona que trabaja en forma independiente, sin ocupar personal remunerado y que explota su propio negocio.

<sup>2</sup> Empresario es la persona que dirige su propia empresa y que contrata uno o más empleados.

TABLA 2

Importancia (%) de la forma de producción, marca y precio en la compra de salsa de tomate y utilidades de los niveles de cada atributo obtenidos con análisis conjunto en la muestra total y correspondiente a grupos obtenidos con análisis de conglomerados jerárquicos en la ciudad de Temuco, Chile. Junio de 2006

	Muestra Total	Grupo 1 N = 197	Grupo 2 n = 45	Grupo 3 n = 158	F	P
Importancia atributos						
Presencia/ausencia manipulación genética	44,57	60,07a	19,90c	32,27b	209,841*	0,000
Marca	29,98	21,51b	19,44b	43,53a	119,502*	0,000
Precio	24,59	18,4 c	56,21a	23,29b	214,255*	0,000
Utilidad niveles de atributos						
Con manipulación genética	-0,633	-1,901c	0,083b	0,742a	502,031*	0,000
Sin manipulación genética	0,633	1,901a	-0,083b	-0,742c	502,031*	0,000
Marca nacional	0,748	0,525b	0,550b	1,083a	23,608*	0,000
Marca propia	-0,748	-0,52 a	-0,550a	-1,083b	23,608*	0,000
Precio US\$0,283/ envase de 200 g	-0,971	-1,165b	-3,811c	-0,079a	186,621*	0,000
Precio US\$0,339/ envase de 200 g	-1,942	-2,329b	-7,622c	-0,158a	186,621*	0,000

Cifras de utilidad en los distintos niveles de un atributo con signo positivo indican preferencia del Consumidor. Utilidades con signo negativo indican pérdida de utilidad para el consumidor o rechazo. Cifras más negativas indican mayor pérdida de utilidad.

\* Significativo al 1%. Letras distintas en sentido horizontal indican diferencias estadísticamente significativas según Prueba de Comparaciones Múltiples de Tukey (p=0,001).

Como se observa en la Tabla 2, mediante análisis conjunto se obtuvo en la muestra total que el factor de mayor importancia en la compra de salsa de tomate fue la presencia o ausencia de manipulación genética (44,6%), seguido por la marca (30,0%) y el precio (25,4%). El consumidor experimentó utilidad positiva o preferencia hacia salsa de tomate producida sin manipulación genética y negativa respecto a la presencia de manipulación genética, ambas de la misma magnitud pero de signo contrario lo que implica el mismo grado de preferencia por el producto sin manipulación genética y rechazo por el alimento transgénico. Se obtuvo utilidad positiva frente a la marca nacional y utilidad negativa o rechazo hacia la marca propia. Ambos niveles de precio reportaron pérdidas de utilidad, las que se incrementaron (cifras de utilidad más negativas) al acceder a comprar los productos a un mayor precio, esto indica que el consumidor experimenta menor rechazo hacia un menor precio y viceversa, por lo cual es posible concluir que el consumidor reacciona positivamente frente a menores precios. Paralelamente, la preferencia por el menor precio permite sugerir que el consumidor no asocia un precio mayor con superior calidad. En forma congruente, la combinación con mayor proporción de primera preferencia

fue salsa de tomate no transgénica-Malloa-US\$0,283/envase de 200 g (48,3%), mientras la menos preferida correspondió a salsa de tomate transgénica-marca propia-US\$0,339/envase de 200 g (47,3%). La combinación salsa de tomate transgénica-Malloa-US\$0,283/envase de 200 g sólo concentró 15,3% de la primera preferencia, y la combinación no transgénica-marca propia-US\$0,283/envase de 200 g el 10,3%. Los coeficientes de correlación de Pearson (0,999) y Tau de Kendall (1,000) fueron valores muy cercanos o iguales a 1, lo que indica una buena bondad de ajuste del modelo conjunto (ecuación 2) y que la ordenación de los estímulos presentados en las tarjetas, corresponde con la ordenación global del encuestado, siendo ambos estadísticamente significativos ( $P=0,000$ ).

**TABLA 3**  
Características socioeconómicas de grupos identificados mediante análisis de conglomerados jerárquicos en compradores de supermercados de la ciudad de Temuco, Chile. Junio de 2006

Muestra	Grupo 1 n = 197	Grupo 2 n = 45	Grupo 3 n = 158
Género		P = 0,451	
Femenino	54,8	51,1	48,1
Masculino	45,2	48,9	51,9
Edad		P = 0,014	
< de 35 años	41,6	24,4	25,3
35-54 años	40,1	48,9	50,6
55 años o más	18,3	26,7	24,1
Tamaño de la familia		P = 0,001	
1-2 integrantes	11,2	6,7	4,4
3-4 integrantes	56,3	75,6	75,9
5 ó más	32,5	17,8	19,6
Presencia y edad hijos		P = 0,000	
Sin hijos	39,6	26,7	14,6
Hijos menores de 5 años	9,1	2,2	10,8
Hijos entre 5 y 12 años	9,6	11,1	10,1
Hijos entre 12 y 17 años	20,3	28,9	43,0
Hijos mayores de edad	21,3	31,1	21,5
Ocupación		P = 0,620	
Cuenta propia	22,8	20,0	21,5
Empresario	8,6	13,3	12,0
Agricultor	29,9	28,9	29,7
Emp. particular	20,8	20,0	17,1
Emp. público	14,7	11,1	10,1
Jubilado	1,0	2,2	3,8
Cesante	2,0	4,4	5,7
Zona residencial		P = 0,635	
Rural	81,7	75,6	81,0
Urbana	18,3	24,4	19,0
Estado civil		P = 0,006	
Soltero	33,0	22,2	14,6
Casado	49,2	48,9	58,2
Separado	6,1	11,1	7,6
Divorciado	3,6	8,9	3,8
Viudo	2,5	6,7	6,3
En pareja	5,6	5,6	9,5
Grupo socioeconómico		P = 0,596	
ABC1	34,0	35,6	35,4
C2	31,5	31,1	35,4
C3	15,7	22,2	17,7
D	16,2	11,1	8,9
E	2,5	0	2,5

Valores de P obtenidos con la Prueba Chi<sup>2</sup>

Mediante análisis de conglomerados jerárquicos, fue posible distinguir tres grupos de consumidores con diferencias estadísticamente significativas ( $p=0,001$ ) en la importancia y utilidad de la presencia o ausencia de manipulación genética del alimento, marca y precio (Tabla 2).

La Tabla 3 presenta las características sociodemográficas de los grupos, los cuales sólo presentaron diferencias significativas según el tamaño del grupo familiar, presencia y edad de hijos ( $P\leq 0,001$ ), edad y estado civil ( $P\leq 0,05$ ) del consumidor. No se observaron diferencias significativas ( $P>0,05$ ) en aspectos de conocimiento de AGM y de actitud hacia el etiquetado (Tabla 4). Las características principales de los grupos obtenidos se describen a continuación:

**TABLA 4**  
Conocimiento de alimentos transgénicos y actitud hacia el etiquetado de los alimentos (%) de grupos identificados mediante análisis de conglomerados jerárquicos en compradores de supermercados de la ciudad de Temuco, Chile. Junio de 2006

Muestra	Grupo 1 n = 197	Grupo 2 n = 45	Grupo 3 n = 158
Ha recibido información de alimentos transgénicos		P = 0,893	
Si	58,4	62,2	58,9
No	41,6	37,8	41,1
Conoce el significado de la palabra transgénico		P = 0,211	
Si	28,9	31,1	21,5
No	71,1	68,9	78,5
Frecuencia de lectura etiquetas de los alimentos		P = 0,311	
Siempre	11,7	13,3	12,7
Generalmente	24,0	33,3	33,5
Ocasionalmente	37,8	26,7	24,7
Casi nunca	19,4	17,8	22,8
Nunca	7,1	8,9	6,3
La etiqueta debe indicar la presencia de ingredientes GM		P = 0,260	
Si	99,0	97,8	100
No	1,0	2,2	0

GM: Genéticamente modificado.

Valores de P obtenidos con la Prueba Chi<sup>2</sup>

El grupo mayoritario (Grupo 1; 49,3% de la muestra, n = 197) otorgó a la presencia o ausencia de manipulación genética en el alimento la mayor importancia en la decisión de compra (60,07%), significativamente superior a los grupos restantes ( $P\leq 0,001$ ), con la menor cifra de utilidad negativa (1,901) frente a la salsa de tomate con manipulación genética, significativamente inferior a los otros grupos ( $P\leq 0,001$ ), lo que implica un alto rechazo hacia la condición de transgénico del alimento (Tabla 2). Asimismo, presentó la mayor cifra de

utilidad positiva o preferencia por el alimento no genéticamente modificado, significativamente superior al resto de los grupos ( $P \leq 0,001$ ). Aun cuando la marca tuvo baja importancia (21,51%), este grupo expresó preferencia por la marca nacional (utilidad positiva de 0,525) y rechazo (utilidad negativa de -0,525) por la marca propia (Tabla 2). Considerando características sociodemográficas (Tabla 3), respecto a la muestra total este grupo presentó mayor proporción (41,6%) de consumidores menores de 35 años ( $P \leq 0,05$ ), mayor porcentaje de personas pertenecientes a familias con uno o dos integrantes (11,2%) y de los grupos familiares con cinco o más personas (32,5%) ( $P \leq 0,001$ ), predominaron las personas sin hijos (39,6%) y fue baja la proporción de personas (20,3%) con hijos entre 12 y 17 años ( $P \leq 0,001$ ), además, se observó la mayor cifra (33,0%) de personas solteras ( $P \leq 0,05$ ). Considerando sus características, este segmento puede ser llamado “consumidores que rechazan la manipulación genética en los alimentos”.

El segundo grupo en importancia numérica (Grupo 3; 39,4% de la muestra,  $n = 158$ ), dio mayor importancia a la marca de la salsa de tomate (43,53%), significativamente superior a los grupos restantes ( $P \leq 0,001$ ) y asignó una importancia media a la presencia de manipulación genética en el alimento (32,37%), significativamente inferior al Grupo 1, pero superior al Grupo 2 ( $P \leq 0,001$ ) (Tabla 2). A diferencia del Grupo 1, este segmento mostró utilidad positiva o preferencia por la salsa de tomate transgénica (0,742), significativamente superior a los Grupos 1 y 2 ( $P \leq 0,001$ ) y, utilidad negativa o rechazo hacia el alimento sin manipulación genética (-0,742), significativamente inferior a los restantes grupos ( $P \leq 0,001$ ). Paralelamente, este grupo presentó la mayor preferencia por la marca nacional (utilidad de 1,083) y el mayor rechazo por la marca propia (utilidad de -1,083) ( $P \leq 0,001$ ) (Tabla 2). Respecto a la muestra total, este segmento presentó mayor proporción de personas (50,6%) entre 35 y 54 años ( $P \leq 0,05$ ), predominaron los consumidores pertenecientes a familias con tres a cuatro integrantes (75,9%) ( $P \leq 0,001$ ), estuvo constituido por el menor porcentaje de personas sin hijos (14,6%) y una elevada cifra (43,0%) con hijos entre 12 y 17 años ( $P \leq 0,001$ ), congruentemente, presentó baja proporción de solteros (14,5%) y la mayor (58,2%) de casados ( $P \leq 0,05$ ). Este grupo puede ser llamado “consumidores preocupados por la marca de los alimentos, prefieren alimentos transgénicos”.

El grupo minoritario (Grupo 2; 11,3% de la muestra,  $n = 45$ ) asignó la mayor importancia al precio del producto (56,21%), significativamente superior a los grupos restantes ( $P \leq 0,001$ ) y, la menor relevancia a la presencia de manipulación genética (19,90%), significativamente inferior a los grupos restantes ( $P \leq 0,001$ ) (Tabla 2). Al igual que el Grupo 3, experimentó preferencia por la salsa de tomate manipulada genéticamente (utilidad de 0,083) y rechazo hacia el produc-

to convencional (utilidad de -0,083). La preferencia por la marca nacional y rechazo hacia la marca propia fue estadísticamente similar al Grupo 1. Este grupo presentó los valores más negativos de utilidad hacia ambos niveles de precio, significativamente inferiores a los grupos restantes ( $P \leq 0,001$ ), lo que además implica una elevada sensibilidad frente a los aumentos de precio (Tabla 2). Desde el punto de vista sociodemográfico (Tabla 3), respecto a la muestra total este grupo presentó mayor proporción de personas mayores de 35 años (48,9% entre 35 y 54 años y 26,7% personas de 55 años y más) ( $P \leq 0,05$ ), predominaron las familias de tres a cuatro integrantes (75,6%) ( $P \leq 0,001$ ), fue bajo el porcentaje de personas con hijos menores de 5 años (2,2%) y superior la cifra con hijos mayores de edad (31,1%) ( $P \leq 0,001$ ), y presentó una mayor proporción de personas separadas, divorciadas y viudas (11,1; 8,9 y 6,7%; respectivamente) ( $P \leq 0,05$ ). Este grupo puede ser llamado “consumidores sensibles al precio de los alimentos, prefieren alimentos transgénicos”.

## DISCUSION

La aceptación de los consumidores hacia los AGM constituye uno de los factores críticos para el futuro del uso de biotecnología en la agricultura y en la producción de alimentos. En este sentido, la presente investigación aporta al debate mundial sobre la actitud que los consumidores tienen hacia los alimentos transgénicos, tema poco investigado en países en vías de desarrollo, como Chile, pero en los cuales la biotecnología está presente en la producción de alimentos. Metodológicamente, evaluar la preferencia o rechazo de los consumidores hacia los AGM usando la técnica multivariada análisis conjunto presenta ventajas por sobre la realización de una pregunta directa al respecto. La forma en que se presentan los estímulos al encuestado con esta técnica (tarjetas con combinaciones de distintos niveles de atributos de un producto real o hipotético) permite enfrentar a los consumidores con elecciones similares a las que realizan en cualquier decisión de compra, es decir, permite obtener una representación más real de las decisiones de consumo (34). Bajo este contexto, si bien en la muestra total de consumidores se obtuvo que la existencia de manipulación genética dominó la elección del consumidor, al tener mayor peso relativo (44,57%) que la marca y el precio en la decisión de compra de salsa de tomate, se determinó un comportamiento diferente en dos segmentos de consumidores para quienes fue más relevante el precio y la marca en la decisión (Grupos 2 y 3). Asimismo, los valores parciales de utilidad obtenidos frente al alimento transgénico y sin manipulación genética en la muestra total, llevarían a concluir que existe preferencia por el alimento tradicional y rechazo hacia el AGM (utilidades positivas y negativas, respectivamente) en forma generalizada, sin embargo, el análisis segmentado de los consumidores permitió distinguir la exis-

tencia de dos segmentos que prefirieron la salsa de tomate transgénica (utilidades positivas en los Grupos 2 y 3), aun cuando el segmento más numeroso presentó rechazo por este producto. A partir de estos resultados, es posible indicar la importancia de incluir técnicas de segmentación de los consumidores en la metodología de este tipo de estudios.

Los resultados de la muestra total se contraponen a la mayor importancia asignada al precio por consumidores estadounidenses, respecto a la presencia de modificación genética en el alimento y la marca como atributos relevantes en la compra de cereales para el desayuno (28). La preferencia por la salsa de tomate sin manipulación genética y el rechazo hacia el producto transgénico (utilidades de 0,633 y -0,633; respectivamente en la muestra total) concuerda con la preferencia de alimentos no transgénicos y rechazo hacia los AGM obtenida por varios autores (6-11). La utilidad positiva frente a la marca nacional (Malloa) y la pérdida de utilidad o rechazo hacia la marca propia coincide con los resultados de la aceptación de cereales para el desayuno con y sin manipulación genética en EE.UU. (28), y se relaciona con la influencia del riesgo percibido en la compra de un alimento con marca propia (46). Paralelamente, si se considera que la segunda combinación de estímulos que concentró la mayor proporción de primera preferencia correspondió a salsa de tomate transgénica-Malloa-US\$0,283/envase de 200 g, es posible corroborar que los consumidores están más dispuestos a comprar alimentos transgénicos de marcas conocidas (17).

No obstante los resultados globales del estudio, la aplicación de análisis de conglomerados jerárquicos permitió distinguir tres segmentos de consumidores, para quienes la importancia de la manipulación genética, marca y precio del alimento fue diferente, de manera coincidente con las preferencias por cereales para el desayuno de consumidores estadounidenses (28). El grupo de consumidores que rechazó la manipulación genética en el alimento (Grupo 1) coincide con la preferencia generalizada por alimentos no transgénicos detectada en otros estudios (6-11) y con la existencia de un segmento de mercado que rechaza fuertemente la modificación genética en cereales para el desayuno (28). Sin embargo, la existencia de dos grupos para los cuales la importancia de la manipulación genética fue inferior a la marca (Grupo 3) o al precio (Grupo 2) que prefirieron la salsa de tomate transgénica, permite confirmar la no universalidad de la resistencia a las modificaciones genéticas (12). Probablemente, este resultado sea atribuible a la definición dada a los consumidores antes de la presentación de los estímulos desarrollados con análisis conjunto: “los alimentos transgénicos son aquellos a los cuales se les ha introducido en forma artificial un gen foráneo a nivel de embrión, de modo que al reproducirse mantengan esta nueva característica, para por ejemplo durante su cultivo eliminar el uso de pesticidas, fungicidas y herbicidas”, debido a que beneficios para el medio ambiente (25,11) como la re-

ducción del uso de pesticidas (16), resultan en una actitud positiva de los consumidores hacia los transgénicos. Cabe señalar sin embargo, que estos resultados se limitan a una ciudad del sur de Chile, a un tipo de alimento de origen vegetal, sin que se haya explicitado el tipo de modificación genética en el producto estudiado, por lo cual futuras investigaciones deben considerar otras zonas geográficas, otros alimentos de origen vegetal, alimentos de origen animal y la posibilidad de discriminar la reacción del consumidor frente a distintos tipos de modificaciones genéticas o con objetivos diferentes (menor costo, mayor valor nutritivo, entre otros). Paralelamente, se deberán realizar estudios cualitativos para lograr una mejor comprensión de las preferencias expresadas por los consumidores.

Por otra parte, la obtención de tres grupos de consumidores con una aceptación diferenciada hacia un alimento transgénico de origen vegetal y distintos perfiles demográficos en cuanto a la edad, tamaño del grupo familiar, presencia y edad de los hijos y estado civil, se contraponen a los resultados de investigaciones que indican que la aceptación de los alimentos transgénicos no posee relación con las características demográficas de los consumidores (29,30). El perfil demográfico del grupo que rechazó la manipulación genética del alimento (Grupo 1) no concuerda con la mayor aceptación de alimentos transgénicos en hombres y personas de mediana edad detectada en otros estudios (23,6,27,7,17,18), debido a que no se registraron diferencias significativas según el género ( $P>0,05$ ) del entrevistado y, este grupo tuvo mayor presencia de personas jóvenes. Paralelamente, no fue posible corroborar un mayor rechazo en personas mayores y con menor nivel educacional (11,28) debido a que en los grupos que prefirieron salsa de tomate transgénica predominaron las personas mayores y no se obtuvieron diferencias significativas ( $P>0,05$ ) según el grupo socioeconómico del consumidor, el cual involucra el nivel de estudios según la metodología usada en su determinación (33).

En relación a la conformación del grupo familiar, más allá de las diferencias detectadas en el número de integrantes, destaca la presencia y edad de los hijos por su relación con la actitud hacia los AGM, aspecto no desarrollado en la literatura consultada. Así, mientras los grupos que concentraron mayores porcentajes de hogares con hijos de edades superiores a 12 años (Grupos 2 y 3) presentaron una actitud positiva hacia los AGM, el segmento que evidenció rechazo (Grupo 1) presentó superior proporción de personas sin hijos (39,6%) y solteros (33,0%). Estos resultados permiten sugerir que estos posibles futuros padres pondrán gran atención en la compra de alimentos no transgénicos para sus hijos, lo que resulta en una oportunidad futura para la industria que elabora alimentos para niños.

A diferencia de otros estudios en los cuales se determinó que un mayor conocimiento de la biotecnología y de los AGM

se correlacionaba positivamente con una superior aceptación de los alimentos transgénicos (17-19), en la presente investigación no se obtuvo relación entre la actitud (preferencia o rechazo) y el conocimiento del consumidor sobre los AGM, debido a que no se observaron diferencias estadísticas en estas variables entre grupos. Sin embargo, es posible señalar un bajo nivel de conocimiento sobre transgénicos en la muestra encuestada, pues sólo 26,3% conocía el significado de la palabra transgénico y 59,0% había recibido información respecto al tema previamente, cifra inferior a lo determinado por Verdume y Viaene (17) en Bélgica (69,5%). La aprobación generalizada respecto a la necesidad de incluir en la etiqueta de los alimentos información del uso de ingredientes genéticamente modificados, coincidió con la actitud de los consumidores argentinos representando la opción de estar informado para elegir (12). Al respecto, surge la necesidad de que en conjunto los Ministerios de Salud y Agricultura chilenos realicen difusión sobre los alcances del uso de la biotecnología en la producción de alimentos y desarrollen una normativa que exija el rotulado de los AGM, de manera que los consumidores puedan tomar una decisión basada en información fidedigna. Esto paralelamente, genera oportunidades para la industria productora de alimentos, en el sentido de desarrollar productos diferenciados enfocados a las preferencias de los distintos perfiles de consumidores.

Por tanto, los consumidores de la Región de La Araucanía, Chile, presentan diferentes actitudes hacia un alimento de origen vegetal genéticamente modificado. Aproximadamente el 50%, formado en mayor proporción por personas menores de 35 años, solteros y pertenecientes a hogares sin hijos, considera este atributo de gran importancia en la elección de salsa de tomate y rechaza la manipulación genética. Para el resto la marca o el precio son más relevantes en la elección y mostraron preferencia por salsa de tomate transgénica, sobre la base de los valores positivos de utilidad obtenidos con el análisis conjunto.

## REFERENCIAS

- Ríos S. Cultivos transgénicos en Chile. Observatorio de la Economía Latinoamericana, n° 38. 2004. Consultado en <http://www.eumed.net/cursecon/ecolat/oe138.htm> en marzo de 2006.
- Reyes MS, Rozowski J. Alimentos transgénicos. Rev. Chil. Nutr. 2003; 30(1): 21-26.
- James C. Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2006. Consultado en <http://www.isaaa.org/Resources/Publications/briefs/35/pptslides/default.html> en julio de 2007.
- Frewer L, Lassen J, Kettlitz B, Scholderer J, Beekman V, Berdal K. Societal aspects of genetically modified foods. Food and Chemical Toxicology 2004; 42: 1181-1193.
- Lassen J, Madsen K, Sandøe P. Ethics and genetic engineering-lessons to be learned from genetically modified foods. Bioprocess Biosystems Engineering 2002; 24: 263-271.
- Einsiedel E. Biotechnology and the Canadian public: 1997 and 2000. Report of the Office of Consumer Affairs (Industry Canada) and the Canadian Food Inspection Agency, Calgary, Alberta. 2000. Faculty of Communication and Culture, University of Calgary.
- Mendenhall C, Evenson R. Willingness to pay a premium for non-genetically modified foods. In: V. Santaniello, R. Evenson and D. Zilberman (Eds.), Market development for genetically modified foods (pp. 55-61). 2002. Wallingford: Cabi Publishing.
- Larue B, West G, Gendron C, Lambert R. Consumer response to functional foods produced by conventional, organic, or genetic manipulation. Agribusiness 2004; 20(2):155-166.
- Grunert K, Lähteenmäki L, Nielsen N, Poulsen J, Ueland O, Åström A. 2000. Consumer perception of food products involving genetic modification: results from a qualitative study in four Nordic countries. Working papers No. 72, MAPP-Center for Market Surveillance and Strategy for the Food Sector, Århus, Denmark.
- Ho P, Vermeer E, Zhao J. Biotechnology and Food safety in China: Consumers' acceptance or resistance? Development and Change 2006; 37(1): 227-253.
- Ganieri P, Chern W, Hahn D. A continuum of consumer attitudes toward genetically modified foods in the United States. J Agric Res Econ 2006; 31(1): 129-149.
- Mucci A, Hough G. Perceptions of genetically modified foods by consumers in Argentina. Food Quality and Preference 2003; 15: 43-51.
- European Commission. Eurobarometer 46.1, Europeans and Modern Biotechnology. European Commission, Brussels-Luxembourg. 1997. Consultado en [http://europa.eu.int/comm/public\\_opinion/archives/eb/ebs\\_108\\_en.pdf](http://europa.eu.int/comm/public_opinion/archives/eb/ebs_108_en.pdf) en junio de 2007.
- Frewer L, Howard C, Shepherd R. Public concerns about general and specific applications of genetic engineering: risk, benefit and ethics. Sci, Tech and Human Values 1997; 22: 98-124.
- Roosen J, Lusk J, Fox J. Consumer demand for and attitudes toward alternative beef labeling strategies in France, Germany and the UK. Agribusiness 2003;19(1): 77-90.
- Kaye-Blake W, Bicknell K, Saunders C. Process versus product: wish determines consumer demand for genetically modified apples? The Australian J Agric Res Econ 2005; 49: 413-427.
- Verdume A, Viaene J. Consumer beliefs and attitude towards genetically modified food: basis for segmentation and implications for communication. Agribusiness 2003; 219(1): 91-113.
- Hossain F, Onyango B, Schilling B, Hallman W, Adelaja A. Product attributes consumer benefits and public approval of genetically modified foods. Int J Consum Stud 2003; 27 (5): 353-365.
- Chen M, Li H. The consumers's attitude toward genetically modified foods in Taiwan. Food Qual Prefer 2007; 18: 662-674.
- Lusk J, Moore M, House L, Morrow B. Influence of brand and type of modification on consumer acceptance of genetically engineered corn chips: a preliminary analysis. Int Food and Agribusiness Management Rev 2002; 4: 320-331.
- Noussair C, Robin S, Ruffieux, B. Do consumers not care about biotech foods or do they just not read the labels? Econ Letters 2002; 75(1): 47-53.

22. Jaeger S, Lusk J, House L, Valli C, Moore M, Morrow B, Traill B. The use of non-hypothetical experimental markets for measuring the acceptance of genetically modified foods. *Food Qual Prefer* 2004; 15: 701-714.
23. Frewer L, Hedderley D, Howard C, Shepherd R. Reactions to information about genetic engineering: impact of source credibility, perceived risk immediacy and persuasive content. *Public Understanding of Sci* 1999; 8(1): 35-50.
24. International Food Information Council (IFIC). U.S. consumer attitudes toward food biotechnology. Wirthlin Group uórum Surveys. Consultado en <http://ific.org/proactive/newsroom/release.vtml?id=19241> en abril de 2002.
25. Frewer L, Howard C, Shepherd R. The influence of realistic product exposure on attitude towards genetic engineering of food. *Food Qual Prefer* 1996; 7: 61-67.
26. Gaskell G, Brauer M., Durant J, Allum N. Worlds apart? The reception of genetically modified foods in Europe and the US. *Sci* 1999; 295: 348-387.
27. Gamble J, Muggleston S, Hedderly D, Parminter T, Vaughn G. Genetic engineering: The public's point of view. HortResearch NZ Client Report No. 000/249. New Zealand: HortResearch NZ NZ. 2000.
28. Baker G, Burnham T. The market for genetically modified foods: consumer characteristics and policy implications. *Int Food and Agribusiness Management Rev* 2002; 4: 351-360.
29. Lusk J, Daniel M, Mark D, Lusk C. Alternative calibration and auction institutions for predicting consumer willingness to pay for nongenetically modified corn chips. *J Agric Resource Econ* 2001; 26(1): 40-57.
30. Hossain F, Onyango B. Products attribute and consumer acceptance of nutritionally enhanced genetically modified foods. *Int J Consum Stud* 2004; 28 (3): 255-267.
31. Manzur M. Organismos genéticamente modificados (II): Contexto global y la situación en Chile. *Ambiente y Desarrollo* 2000; 26 (1 y 2): 48-55.
32. Fernández A. Investigación y técnicas de mercado. Primera edición. Editorial Esic. Madrid, España. 2002. 273 pp.
33. Adimark. Mapa socioeconómico de Chile. Consultado en [http://www.adimark.cl/medios/estudios/informe\\_mapa\\_socioeconomico\\_de\\_chile.pdf](http://www.adimark.cl/medios/estudios/informe_mapa_socioeconomico_de_chile.pdf) en octubre de 2005.
34. Hair J, Anderson R, Tatham R, Black W. Análisis Multivariante. Otero. Quinta edición. Prentice Hall Internacional. Inc. Madrid, España. 1999. 832 pp.
35. Harrison R, Gillespie J, Fields D.. Theoretical and empirical considerations of eliciting preferences and model estimation in conjoint analysis. Selected Paper, American Agricultural Economics Association Annual Meeting, Chicago IL, USA, August 5-8. 2001.
36. Orth U, Firtasová Z. The role of consumer ethnocentrism in food product evaluation. *Agribusiness* 2003; 19(2): 137-153.
37. Schnettler B, Ruiz D, Sepúlveda O, Sepúlveda N. Importance of the country of origin in food consumption in a developing country. *Food Qual Prefer* 2007; doi: 0.1016/j.foodqual.2007.11.005
38. Gan C, Luzar E. A Conjoint Analysis in Waterfowl Hunting in Louisiana. *J Agric Appl Econ* 1993; 25(2): 36-45.
39. Haldibrent C, Wirth F, Vaughn G. Conjoint analysis of the mid-atlantic food – fish market for farm raised hybrid striped bass. *South J Agric Econ* 1991; 23(1): 155-163.
40. Sethuraman R, Cole C. Factors influencing the price premiums that consumers pay for national brands over store brands. *J Prod Brand Manag* 1999; 8(4): 340-351.
41. Unilever. Nuestras marcas. Consultado en <http://www.bresler.cl/ourbrands/foods/malloa.asp> en noviembre de 2007.
42. Oficina de Estudios y Políticas Agrarias (ODEPA). Estadísticas y precios. Series de precios. Series de tiempo. 2007. Consultado en <https://www.odepa.gob.cl/odepaweb/servlet/sistemas.precios.ServletPreciosScr;jsessionid=91C88924552D978D5B2A9E7DBF9A11F6> en marzo de 2007.
43. Andrews R, Currim I. Recovering and profiling the true segmentation structure in markets: an empirical investigation. *Int J Res Marketing* 2003; 20: 177-192.
44. Levin R, Rubin D. Estadística para Administradores. Sexta edición. Prentice Hall, Hispanoamericana S.A. Juárez. México. 1996. 1018pp.
45. Lea P, Rodbotten M, Naes T. Analysis of variance for sensory data. 1<sup>st</sup> ed. Wiley. Chichester, UK. 1997. 102 pp.
46. Rajeev B, Indrajit S. Consumer-level factors moderating the success of private label brands. *J Retailing* 2000; 76(2): 175-191.

Recibido: 06-08-2007

Aceptado: 06-12-2007

## DetECCIÓN DE LA ENTEROTOXINA A DE *Staphylococcus aureus* MEDIANTE LA REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR) Y SU CORRELACIÓN CON LAS PRUEBAS DE COAGULASA Y TERMONUCLEASA

María José Suarez, María Laura Arias y María del Mar Gamboa

Centro de Investigación en Enfermedades Tropicales (CIET), Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica

**RESUMEN:** *Staphylococcus aureus* es una bacteria patógena, de amplia distribución en la naturaleza, asociada con infección general y brotes alimentarios. La relación de esta bacteria con cuadros alimentarios se ha realizado, históricamente, a partir de varias pruebas, incluyendo la coagulasa, termonucleasa, y en la actualidad, PCR para los genes que codifican específicamente por la enterotoxina responsable del cuadro. El presente trabajo pretende detectar por medio de la reacción en cadena de la polimerasa la presencia del gen que codifica para la enterotoxina A en un grupo de cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas de alimentos, así como correlacionar la presencia de este gen con la producción de las enzimas coagulasa y termonucleasa. Se analizaron 69 cepas de estafilococos, 58 provenientes de muestras de leche no pasteurizada de la Estación Experimental Alfredo Volio Mata y 11 de la colección del Laboratorio de Alimentos y Aguas de la Facultad de Microbiología de la Universidad de Costa Rica. Se les realizó a las cepas las pruebas de coagulasa, termonucleasa y enterotoxina A, y un análisis estadístico entre los resultados obtenidos para verificar su posible asociación. Los resultados demuestran que no existe correlación entre las tres variables, no obstante, todas las cepas coagulasa positivas fueron termonucleasa pero no así a la inversa y todas las cepas enterotoxina positiva son también coagulasa y termonucleasa positivas, no así a la inversa. Lo anterior pone de manifiesto el que utilizar pruebas presuntivas o indirectas para evidenciar enterotoxigenicidad en cepas de *S. aureus* no es confiable y por lo tanto es recomendable realizar el análisis directo de éstas utilizando técnicas altamente sensibles y específicas, como es el PCR.

**Palabras clave:** *Staphylococcus aureus*, enterotoxina, coagulasa, termonucleasa, PCR.

### INTRODUCCION

*Staphylococcus aureus* es una bacteria patógena, de amplia distribución en la naturaleza, asociada con infección general y brotes alimentarios (1). Los cuadros de origen alimentario son muy frecuentes, a pesar de que se da un importante subregistro y ocurren desde tiempos inmemorables. Esta bacteria es capaz de producir gran cantidad de toxinas extracelulares y factores de virulencia que contribuyen a su patogenicidad. Hasta hace algunos años, para asociar esta bacteria a un cuadro alimentario, se hacía una prueba de

**SUMMARY.** *Staphylococcus aureus* enterotoxin A detection using the polymerase chain reaction (PCR) and its correlation with coagulase and thermonuclease tests. *Staphylococcus aureus* is a pathogenic bacterium, widely distributed on nature and associated to general infection and food borne outbreaks. The relationship between this bacterium and food borne outbreaks has been done, historically, using several tests, including coagulase, thermonuclease and actually, PCR for the genes codifying for the enterotoxin responsible of clinical symptoms. The objective of this work is to detect enterotoxin A codifying gene through PCR in a group of *S. aureus* strains isolated from food samples, and also to correlate the presence of this gene with the production of coagulase and thermonuclease enzymes. A total of 69 staphylococcal strains were analyzed, 58 obtained from non pasteurized milk samples from the Estación Experimental Alfredo Volio Mata and 11 from the Food and Water Microbiology Laboratory collection, Universidad de Costa Rica. Coagulase, thermonuclease and enterotoxin A were analyzed in all the strains, and a statistical correlation was performed in order to verify possible associations. Results show that there is no correlation between the three variables, nevertheless, all coagulase positive strains were thermonuclease positive, and all enterotoxin positive strains were coagulase and thermonuclease positive, but not inversely. These results show that the use of presumptive or indirect tests for establishing enterotoxigenicity of *S. aureus* strains is not truthful, more sensible and specific analysis, as PCR, shall be performed.

**Key words:** *Staphylococcus aureus*, enterotoxin, coagulase, thermonuclease, PCR.

coagulasa en tubo; no obstante, hoy se conoce de otras especies diferentes a *S. aureus* que también pueden dar esta prueba positiva, o bien, cepas que dan esta prueba negativa y son enterotoxigénicas, por lo que han surgido métodos más definitivos y específicos (2,3).

Seguidamente, surgió la prueba de termonucleasa como una alternativa rápida y precisa para la identificación de esta bacteria (4). Se ha descrito una relación entre la presencia de esta enzima y la producción de coagulasa y una correlación aún más estrecha entre la producción de la termonucleasa y la producción de enterotoxina (5). A diferencia de la coagulasa,

esta prueba es capaz de detectar cepas de *S. aureus* coagulasa negativas pero enterotoxina positivas. No obstante, también se ha sido discutida ampliamente su asociación con patogenicidad (4,5).

Dentro de los métodos de diagnóstico de esta bacteria más actualizados y exactos, se encuentra la detección de enterotoxinas termoestables (6), destacándose la enterotoxina A, que es la que con mayor frecuencia se asocia a brotes de intoxicación alimentaria y que es extremadamente potente; una cantidad tan pequeña como 100 ng es suficiente para causar síntomas de intoxicación (7).

Existe un gran número de métodos fenotípicos para el análisis de esta enterotoxina, pero dado que las secuencias nucleótidas de los genes de ésta han sido localizados en bacteriófagos vectores (8) y secuenciados, es posible la utilización de la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) para su detección rápida y confiable (9).

El presente trabajo pretende detectar por medio de la reacción en cadena de la polimerasa la presencia del gen que codifica para la enterotoxina A en un grupo de cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas de alimentos, así como correlacionar la presencia de este gen con la producción de las enzimas coagulasa y termonucleasa.

## MATERIAL Y METODOS

### Localización del proyecto

El estudio se llevó a cabo en el Laboratorio de Microbiología de Alimentos y Aguas de la Facultad de Microbiología de la Universidad de Costa Rica, durante los meses de Abril a Noviembre del 2006.

### Cepas utilizadas

#### Obtención de las cepas de *S. aureus*

Se utilizaron once cepas de *S. aureus* aisladas previamente de quesos de origen costarricense, y que pertenecen a la colección del Laboratorio de Microbiología de Alimentos de la Facultad de Microbiología. Además se emplearon 58 cepas de *S. aureus*, aisladas de muestras de leche no pasteurizada provenientes de la Estación Experimental Alfredo Volio Mata. Como control positivo de enterotoxina se utilizó la cepa ATCC 13565 y como control negativo la cepa ATCC 25923.

#### Prueba de coagulasa

Se realizó la prueba estandarizada de coagulasa en tubo utilizando plasma de conejo (10).

#### Prueba de termonucleasa

Se realizó según la metodología descrita por Lachica *et al.*, utilizando agar ADNasa (11).

### Extracción de ADN de las cepas de *Staphylococcus aureus*

La extracción de ADN de todas las cepas de *S. aureus* se realizó de acuerdo con la metodología utilizada por Johnson *et al.* (12). Brevemente, se cultivaron las cepas en caldo infusión de cerebro por 18 horas. Se transfirió 1 mL del cultivo y se centrifugó a 2000 rpm por 10 min; al sedimento se le agregó el mililitro de cultivo restante y se repitió la centrifugación. El sedimento se resuspendió en 0,3 mL de PBS con 1 mg de lisozima por mL. Se incubó a 37°C durante 1,5 horas. Se adicionó 0,3 mL de SDS 1% y se dejó la solución por 5 min. Luego se agregó 0,6 mL de fenol buferizado y se agitó por inversión por 10 minutos. Se centrifugó a 2000 rpm por 20 min y se removió la fase superior acuosa y se transfirió a otro tubo limpio. Posteriormente se agregó 0,3 mL de fenol buferizado y 0,3 mL de cloroformo-alcohol isoamílico (24:1), se agitó nuevamente por inversión por 10 min, se repitió la centrifugación y se transfirió la fase acuosa a un tubo limpio. Se procedió a agregar 0,6 mL de cloroformo, se mezcló por inversión por 10 min y se centrifugó a 2000 rpm por 5 min. Se transfirió la fase superior a otro tubo limpio y se le agregó 1 mL de isopropanol. Se centrifugó a 15000 rpm por 1 hora. Se decantó y se descartó el sobrenadante.

El botón se lavó con 0,5 mL de etanol al 70% y se secó. Finalmente el botón se resuspendió en 0,1 mL de amortiguador TE y se dejó disolver a 4°C. El ADN se almacenó a -20°C.

Para confirmar la extracción de ADN se realizó una electroforesis en gel de agarosa al 1%. Como marcador de peso molecular se utilizó el marcador Mass Ruler ADN.

### Imprimadores para la reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

Se utilizaron los imprimadores empleados por Johnson *et al.* (8, 12), los cuales están diseñados para amplificar una región interna del gen codificante para la enterotoxina A de *Staphylococcus aureus*. En la Tabla 1 se muestra el detalle de estos imprimadores.

TABLA 1  
Imprimadores utilizados en el PCR

Imprimador	Secuencia (5'-3')	Tamaño del producto (pb)	Contenido CG (%)
Sea1	TTGGAACGCT TAAAAC	120	35
Sea2	GAACCTCCCA TCAAAAACA		40
Sear1	GGTTATCAATGT GCGG	102	55
Sear2	CGGCACTTTTTTC TCTTCGG		50

### Reacción en cadena de la polimerasa para la detección de la enterotoxina A

Para la estandarización del método se trabajó únicamente con las cepas de *S. aureus* utilizadas como control tanto positivo como negativo en diferentes diluciones (1:1; 1:10; 1:50; 1:100). Se siguió el protocolo descrito por Johnson *et al.* (8) con las siguientes modificaciones: la mezcla de reacción final contenía un volumen de 25 µL compuesto por 1 µL de ADN, 1 µL de imprimadores, 10,5 µL de agua libre de nucleótidos para PCR y 12,5 µL de mezcla para PCR 2X. Esta mezcla incluye 0,05 U/µL de Taq polimerasa, los desoxirribonu-cleótidos trifosfato (dATP, dGTP, dCTP, dTTP) 0,4 mM y MgCl<sub>2</sub> 4 mM.

El ciclo de reacción con el primer par de imprimadores (sea1 y sea2) consistió en una desnaturalización inicial de 4 min a 94°C, 30 ciclos constituidos a su vez de una desnaturalización de 2 min nuevamente a 94°C, alineamiento de los imprimadores a 55°C por 2 min y la extensión a 72°C por 1 min. Finalmente un último ciclo de extensión de 7 min a 72°C.

El segundo ciclo de reacción con el segundo grupo de imprimadores consistió en una desnaturalización inicial de 5 min a 94°C, 35 ciclos constituidos a su vez de una desnaturalización de 2 min nuevamente a 94°C, alineamiento de los imprimadores a 57°C por 2 min y la extensión a 72°C por 1 min. Finalmente un último ciclo de extensión de 7 min a 72°C (12).

Se utilizó como control negativo la cepa *S. aureus* ATCC 25923 y un blanco con todos los reactivos de PCR excepto el ADN.

Para la visualización de los productos se realizó una electroforesis en una cámara Iotodyne con una fuente de poder BioRad. En este caso se empleó un gel con agarosa al 2% en amortiguador TBE 0,5X teñido con bromuro de etidio (1 mg/mL). Como marcador de peso molecular se utilizó el marcador Mass Ruler ADN. Los productos se separaron a 150 V por 1 hora aproximadamente. Se tomó una fotografía con el programa Kodak IDLE y una cámara modelo DC290.

### Estudio de correlación entre la producción de enterotoxina A, coagulasa y termonucleasa

A partir de los resultados obtenidos en las tres pruebas se realizó un análisis de coeficiente de correlación (13) de coagulasa con termonucleasa, termonucleasa con enterotoxina A y finalmente coagulasa con enterotoxina A (95% significancia).

## RESULTADOS

Se analizó un total de 69 cepas, 58 provenientes de las muestras de leche no pasteurizada de la Estación Experimental Alfredo Volio y 11 provenientes de queso, todas de la colección del Laboratorio de Alimentos y Aguas. Los datos obtenidos para las pruebas de coagulasa, termonucleasa y PCR se presentan en la Tabla 2.

TABLA 2

Comparación de los resultados obtenidos para las pruebas de coagulasa, termonucleasa y enterotoxina A por PCR

	Coagulasa	Termonucleasa	Enterotoxina A
Número de muestras positivas	24/69	46/69	7/69
Porcentaje (%)	35	67	10,14

### Prueba de coagulasa

Un total de 24 (35%) de las cepas analizadas presentaron la formación de coágulo.

### Prueba de termonucleasa

El 67% de las cepas evaluadas fue positivo para esta prueba.

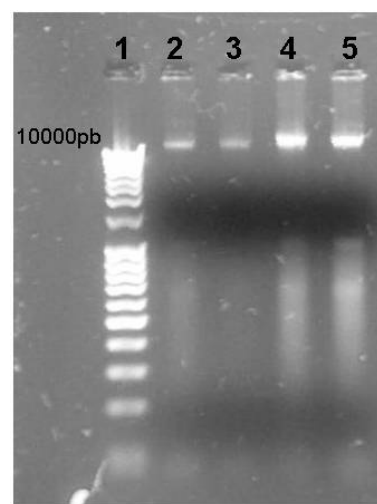
### Extracción de ADN

Inicialmente, después de realizar la extracción de ADN según Johnson *et al.* (9), la electroforesis y tomar la fotografía no se observó ningún producto. Sin embargo, después de aumentar la concentración de lisozima a 1 mg/mL y el tiempo de incubación a 1,5 horas, se logró obtener en todos los casos, una banda de aproximadamente 10000 pb, esto según la comparación con el marcador molecular Mass Ruler DNA® (Figura 1).

FIGURA 1

Gel de agarosa con los productos obtenidos después de una extracción de ADN en cepas de *Staphylococcus aureus*.

1) Marcador molecular Mass Ruler DNA®. 2,3) ADN ATCC 13565. 4,5) ADN ATCC 58.



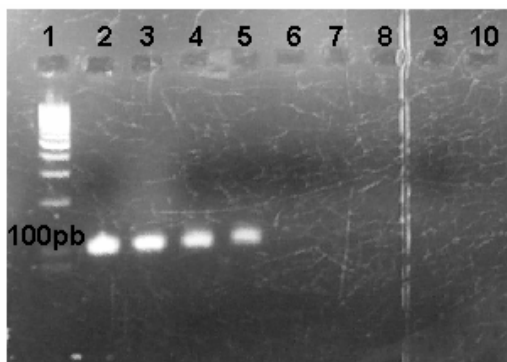
### Detección de enterotoxina A mediante la reacción en cadena de la polimerasa

Se siguió la metodología descrita por Johnson *et al.* (8) con los imprimadores sea1 y sea2, pero pese a que se evaluó la concentración de magnesio variándola en 0,5 mM, desde 2,5 mM hasta 4 mM y temperatura de hibridación de 55°C a 50°C, no se logró obtener ningún producto.

Finalmente se procedió a utilizar la metodología descrita por Johnson *et al.* (12) utilizando los imprimadores sear1 y sear2. En este caso sí se logró obtener un producto con un peso molecular de aproximadamente 100 pares de bases de acuerdo a la comparación con el marcador molecular Mass Ruler DNA® (Figura 2).

FIGURA 2

Gel de agarosa con los productos obtenidos a partir del PCR en las cepas control. 1) Marcador Molecular Mass Ruler DNA®. 2) Control positivo (1:1). 3) Control positivo (1:10). 4) Control positivo (1:50). 5) Control positivo (1:100). 6) Control negativo (1:1). 7) negativo (1:10). 8) Control negativo (1:50). 9) Control negativo (1:100). 10) Blanco



Al analizar las cepas, se observó la banda correspondiente al gen de la enterotoxina A en 7 de éstas cepas, es decir en un 4,8%.

### Análisis de correlación entre las variables analizadas

Con los datos obtenidos y una precisión del 95% se observa que no existe correlación entre las pruebas de coagulasa-termonucleasa, coagulasa-enterotoxina A y termonucleasa-enterotoxina A.

### DISCUSION

Debido a que las enterotoxinas estafilocócicas son una de las principales causas de intoxicación alimentaria, su detección es un factor esencial tanto para un diagnóstico preciso como para el rastreo de productos contaminados. En muchos laboratorios se realizan pruebas enzimáticas para detectar la producción de coagulasa o de termonucleasa como una medida

presuntiva para cepas enterotoxigénicas; sin embargo, la asociación entre éstas ha sido muy discutida (14). Al respecto, Boothby *et al.* (15) destacan que la producción de coagulasa y termonucleasa representan alternativas confiables para la identificación del *S. aureus*, aparte de que no requieren mucho tiempo ni dinero para su realización, pero su correlación con la producción de enterotoxinas no es posible debido a que son frecuentes en cepas de *S. aureus* no enterotoxigénicas. Igualmente, Gandra *et al.* señalan que especies como *S. intermedius* y *S. hyicus* también son tanto coagulasa como termonucleasa positivas por lo que en una detección indirecta de enterotoxinas éstas resultarían en falsos positivos (16). Por otro lado, Jablonsky y Bohac (17) añaden el que la situación se complica con la aparición de nuevas cepas enterotoxigénicas pero coagulasa negativas, las cuales podrían considerarse variantes o mutantes de las especies *S. aureus* productoras de enterotoxinas.

Dado lo anterior, la evaluación directa de enterotoxina resulta muy importante. Existen diversos métodos para su detección, incluyendo métodos inmunoenzimáticos (ELISA) y de radioinmunoensayo (RIA), pero con una sensibilidad variable. Ante esta realidad, el diseño de protocolos moleculares como la Reacción de Cadena de la Polimerasa (PCR) resulta una valiosa alternativa para la identificación de estas cepas toxigénicas.

Dentro de las ventajas de la técnica de PCR, cabe resaltar su alto grado de especificidad, y en el caso de la enterotoxina de *S. aureus*, los imprimadores están diseñados tomando en cuenta el alto grado de homogeneidad que existe entre los genes de las diferentes enterotoxinas (8).

Dado lo anterior, se procedió a determinar tanto la producción de coagulasa y termonucleasa como los genes que codifican por la enterotoxina A en cepas de *S. aureus*, así como un análisis de correlación entre las mismas.

Después de analizar todas las cepas se obtuvo una banda del tamaño esperado en siete de ellas demostrando así la efectividad del procedimiento para detectar, en este caso, la enterotoxina A. Esto es de suma importancia ya que la cantidad de enterotoxina necesaria para causar los síntomas en un paciente es mínima (menos de 1µg) por lo que se necesita un método altamente sensible, característica que cumple el PCR (14).

Posteriormente, al analizar los resultados de las tres pruebas para cada cepa, no se observó ninguna correlación estadística entre las mismas. Sin embargo, todas las cepas coagulasa positivas fueron termonucleasa positivas (con una única excepción) pero no así a la inversa. Lo mismo ocurre con la presencia del gen de la enterotoxina A, todas las cepas que resultaron enterotoxina positiva son también coagulasa y termonucleasa positivas, no así a la inversa.

Resultados semejantes han sido citados en la literatura, donde se destaca la creciente aparición de cepas de *S. aureus*

coagulasa negativas pero enterotoxina positivas (18) así como una correlación negativa entre la síntesis de producción de termonucleasa y enterotoxina, donde se reporta la producción de termonucleasa a través de toda la curva de crecimiento de la bacteria y no así de las enterotoxinas, donde la producción se da a nivel de fase exponencial e inicios de la fase estacionaria (19).

Por otro lado Neil *et al.* (20) encontraron una correlación mayor al 93% entre el genotipo y el fenotipo para los genes de las enterotoxinas *sea*, *seb*, *sec*, *sec* y *see*; no obstante, destacan que la confiabilidad y reproducibilidad de esta correlación depende de la expresión genética (8).

Se evidencia por lo tanto que existe una discrepancia entre cepas coagulasa y termonucleasa positiva, las cuales no necesariamente son enterotoxigénicas y viceversa. Lo anterior pone de manifiesto el que utilizar pruebas presuntivas o indirectas para evidenciar enterotoxigenicidad en cepas de *S. aureus* no es confiable y por lo tanto es recomendable realizar el análisis directo de éstas utilizando técnicas altamente sensibles y específicas, como el PCR.

#### REFERENCIAS

- Hsiao M, Chen T & Tsen H. Novel PCR primers for specific detection of C1, C2 and C3 enterotoxin genes in *Staphylococcus aureus*. J Food Drug Anal. 2003.11: 338-343.
- Kloos, W & Schleifer K. Simplified scheme for routine identification of human staphylococcus species. J Clin Microbiol. 1975. 1: 82-88.
- Watts J, Nickerson S & Pankey J. Evaluation of the API Staph-Ident system for identification of staphylococci isolated from bovine intramammary sources. Dairy Research Report, Hill Farm Experiment Station. 1983. 1: 253-282.
- Ratner, H & Stratton C. Thermonuclease test for same day identification of in blood cultures. J Clin Microbiol. 1990. 21: 995-996.
- Post D. Food-borne pathogens. Monograph Number 6. *Staphylococcus aureus*. Oxoid. 1999.
- Pepe o, Blaiotta G, Bucci F, Anastasio M, Aponte M & Villani F. *Staphylococcus aureus* and Staphylococcal enterotoxin A in breaded chicken products: detection and behavior during the cooking process. Appl Environ Microbiol. 2006. 72: 7057-7062.
- Dinges M, Orwin P & Schlievert P. Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. Clin Microbiol Rev. 2000. 13: 16-34.
- Johnson W, Tyler F, Ewan E, Ashton F, Pollard D and Roxee K. Detection of genes for enterotoxins, exfoliative toxins, and toxic shock syndrome toxin 1 in *Staphylococcus aureus* by the polymerase chain reaction. J Clin Microbiol. 1991. 29: 426-430.
- Becker, K., Roth, R. & Peters, G. Rapid and specific detection of toxigenic *Staphylococcus aureus* by two multiplex PCR enzyme immunoassays for amplification and hybridization of staphylococcal enterotoxin genes, exfoliative genes, and toxic shock syndrome toxin one gene. J Clin Microbiol. 1998. 36: 2548-2553.
- Jasper D, Infante F & Dellinger J. Relationships among the results of coagulase, staphylococcal toxin and thermonuclease tests on Staphylococci from cow milk. J Clin Microbiol. 1985. 21: 582-584.
- Lachica R, Genigeorgis C & Hoepflich P. Metachromatic agar diffusion methods for detecting staphylococcal nuclease activity. Appl Microbiol. 1971. 21: 585-587.
- Johnson W, Mehrotra M. & Wang G. Multiplex PCR for detection of genes for *Staphylococcus aureus* enterotoxins, exfoliative toxins, toxic shock syndrome toxin 1 and methicillin resistance. J Clin Microb. 1999. 38: 1032-1035.
- Walpole R, Myers R & Myers S. 1999. Probabilidad y estadística para ingenieros. Prentice Hall Hispanoamericana, SA. México. 6 Ed. 730p.
- Beuchat L, Doyle M & Montville T. 2001. Microbiología de los alimentos. Editorial Acribia. Zaragoza, España. 785p.
- Boothby J, Geniceorgis C. & Fanelli M. Tandem coagulase/thermonuclease agar method for detection of *S. aureus*. Appl Environ Microbiol. 1998. 37: 298-232.
- Gandra E, Silva J, Macedo M, Araujo M, Mata M & Silva W. Biochemical differentiation among *S. aureus*, *S. intermedius*, *S. hyicus* isolated from bovines with subclinical mastitis. Arch Vet Sci. 2005. 10: 75-87.
- Jablonsky L & Bohac G. 1997. *Staphylococcus aureus*. Food Microbiology. Editorial Press. Washington, EEUU. 353-376.
- Udo E, Al Bustan M, Jacob L & Chugh T. Enterotoxin production by coagulase negative staphylococci in restaurant workers from Kuwait City may be a potential cause of food poisoning. J Med Microb. 1999. 48: 819-823
- Otero A, García M, García C, Moreno B & Bergdoll S. Production of Staphylococcal enterotoxins C1 and C2 and thermonuclease throughout the growth cycle. Appl Environ Microbiol. 1990. 56: 555-559.
- Neil R, Fanning G, Delahoz F, Wolff R & Gemski P. Oligonucleotide probes for detection and differentiation of *Staphylococcus aureus* strains containing genes for enterotoxins A, B, and C and toxic shock syndrome toxin 1. J Clin Microbiol. 1990. 28: 1514-1518.

Recibido: 22-10-2007

Aceptado: 17-12-2007

## La cáscara de cacao (*Theobroma cacao* L.): una posible fuente comercial de pectinas

Humberto Barazarte, Elba Sangronis, Emaldi Unai

Universidad Simón Bolívar. Laboratorio de Análisis de Alimentos. Dpto. de Procesos Biológicos y Bioquímicos.  
Universidad Central de Venezuela. Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Caracas, Venezuela

**RESUMEN.** La explotación comercial del cacao (*Theobroma cacao* L.) genera un volumen de cáscaras que pudiera utilizarse para la producción de pectinas a nivel industrial. Por tal razón, se extrajeron pectinas de la cáscara de cacao a diferentes condiciones de pH y temperatura y se evaluaron sus principales características químicas. Para la extracción se usó EDTA al 0,5% a pHs 3, 4 y 5 y temperaturas de 60, 75 y 90°C, bajo diseño factorial 3<sup>2</sup>. Las variables respuestas fueron: rendimiento, contenido de ácido anhidrogálico (AGA), contenido de metoxilo, grado de esterificación y peso equivalente de las pectinas extraídas. Se determinó la fuerza del gel péctico con un texturómetro TA – XT2i. Con la pectina extraída se elaboró una mermelada de fresa y se determinó su aceptabilidad empleando una escala hedónica de 7 puntos. Se obtuvo un rendimiento de extracción de 2,64 a 4,69 g/100g, un contenido de AGA entre 49,8 y 64,06 g/100g, un contenido de metoxilo entre 4,72 y 7,18 g/100g, un grado de esterificación entre 37,94% y 52,20%, un peso equivalente entre 385,47 a 464,61 g/equivalente de H<sup>+</sup> y un grado de gelificación entre 285,64 y 806,03 g fuerza. La pectina extraída a pH 4 y 90 °C mostró un poder gelificante de 422,16 g fuerza, pureza 62,26 g/100g de AGA y un rendimiento de extracción de 3,89 g/100g, y permitió preparar una mermelada con un nivel de agrado promedio de “me gusta moderadamente”. Las pectinas de cáscaras de cacao presentan potencial aplicación en la industria de alimentos, pero es necesario optimizar los parámetros de extracción para aumentar su rendimiento. **Palabras clave:** Acido galacturónico, metoxilo, pectina, textura.

### INTRODUCCION

El cacao (*Theobroma cacao* L.) es uno de los productos agroalimentarios de origen neotropical de mayor penetración en el mercado internacional y sus exportaciones en grano han representado más de 71% de volumen producido, situación derivada del alto valor agregado promocionado por la industria del chocolate y sus derivados (1). En la explotación cacaotera solo se aprovecha económicamente la semilla, que representa aproximadamente un 10% del peso del fruto fresco. Esta circunstancia se ha traducido en serios problemas ambientales tales como la aparición de olores fétidos y el deterioro del paisaje, así como también problemas de disposición. Los desechos generados están constituidos en su mayoría por la cáscara, que además se considera un foco para la

**SUMMARY. Cocoa (*Theobroma cacao* L.) hulls: a possible commercial source of pectins.** Commercial exploitation of cocoa (*Theobroma cacao* L.) generates a volume of hulls that could be used in the production of pectins on an industrial scale. Therefore, pectins from cocoa hulls were extracted at different pH and temperature conditions, and their main chemical characteristics were evaluated. EDTA at 0.5% was used for the extraction at pHs 3, 4 and 5 and temperatures of 60, 75 and 90°C, under a 3<sup>2</sup> factorial design. The response variables were yield, content of anhydrous galacturonic acid (AGA), content of metoxil, degree of esterification and equivalent weight of the pectins extracted. The strength of the pectic gel was determined with a TA – XT2 texturometer. Strawberry jam was made with the pectin extracted, and its acceptability was determined using a 7-point hedonic scale. The results obtained were as follows: an extraction yield from 2.64 to 4.69 g/100g; an AGA content between 49.8 and 64.06 g/100g; a content of metoxil between 4.72 and 7.18 g/100g; a degree of esterification between 37.94 and 52.20 %; an equivalent weight from 385.47 to 464.61 g/equivalent of H<sup>+</sup>, and a degree of gelation between 28.64 and 806.03 g force. The pectin extracted at pH 4 and 90 °C showed a gelation power of 422.16 g force, purity 62.26 g/100g of AGA, and a yield of extraction of 3.89 g/100g and allowed to prepare a jam with an average level of liking of “like moderately”. Pectins from cocoa hulls show potential application in the food industry, but it is necessary to optimize the extraction parameters to increase its yield.

**Key words:** Galacturonic acid, metoxil, pectins, texture.

propagación de *Phytophthora spp*, causa principal de pérdidas económicas de la actividad cacaotera (2).

En Venezuela, la producción de semillas de cacao durante el período 2001–2005, fue de 16.000 ton/año (3). Si se considera que la relación entre el rendimiento de la semilla seca y la cáscara fresca es 1:10, se concluye que la actividad cacaotera del país generó un promedio de 160.000 ton/año de cáscaras en el lapso señalado. A nivel mundial hay varios países que muestran una producción de cacao muy superior a la de Venezuela, tal es el caso de Costa de Marfil y Ghana, con 1.330.000 y 736.000 ton/año, respectivamente (3). Esto ha motivado el desarrollo de estudios a nivel de campo con la finalidad de aumentar el valor comercial y diversificar el uso de las cáscaras de cacao, cuyo aprovechamiento tradicional es como insumo para la alimentación animal y la recuperación de suelos (2).

Las cáscaras de cacao se han propuesto como fuente de pectinas a nivel comercial, por su relativo bajo costo (4). Las pectinas son un grupo de polisacáridos vegetales estructurados básicamente por moléculas de ácido D – galacturónico unidas por enlaces glucosídicos, donde algunos de los carboxilos pueden estar esterificados con metilos o en forma de sal (5). Las pectinas se usan en la industria alimentaria como gelificantes, espesantes, texturizantes, emulsificantes y estabilizantes, como sustitutos de grasa en alimentos de bajo aporte calórico y su aplicación más común es en la manufactura de mermeladas y jaleas. Esta multifuncionalidad de la pectina es atribuida a la presencia de regiones polares y apolares dentro de su molécula, lo que permite incorporarla a diferentes sistemas alimenticios (6). Las pectinas se usan en combinación con lípidos en la elaboración de películas comestibles de doble capa y emulsionadas (7, 8); en la industria farmacéutica se aprovecha el uso terapéutico de la pectina como constituyente de la fibra dietaria (6, 9).

Las pectinas comerciales se obtienen principalmente de la cáscara de cítricos y bagazo de manzana (5). Sin embargo, se ha intentado la búsqueda de otras fuentes comerciales de pectina con el objeto de cubrir parcialmente la creciente demanda en el mercado. Fontes (10) extrajo pectinas del endocarpio de cacao con un rendimiento de 8,0% en base seca. Mientras que Adomako (11) obtuvo un rendimiento de extracción de 8,0% a 11,0% (base seca) a partir de cáscaras de cacao. López y col. (2) sugieren el uso de las pectinas de cáscara de cacao en conjunto con las gomas para la elaboración de compuestos adhesivos en la industria farmacéutica. Estos escasos estudios indican el poco conocimiento que se tiene sobre las características y propiedades de la pectina de las cáscaras de cacao. De lograr extraer pectinas de dicha fuente se aumentaría el valor agregado del cacao y podría representar una solución parcial al problema ambiental generado por las cáscaras.

El objetivo de esta investigación fue extraer pectinas de la cáscara de cacao a diferentes condiciones de pH, temperaturas y evaluar sus principales características químicas.

## MATERIALES Y METODOS

### Materiales

Se utilizaron frutos de cacao tipo Forastero clon IMC 67, procedente de la zona de Cauca y suministrados por el Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA) del estado Miranda. La muestra de cáscara de cacao se preparó según el procedimiento aplicado por Srirangarajan y Shrikhande (12) con algunas modificaciones. Las mazorcas de cacao fueron cortadas transversalmente en dos mitades y se separaron manualmente las semillas de la cáscara. Las cáscaras se cortaron en trozos pequeños, se deshidrataron a 55°C durante 36 – 48 h hasta un contenido de humedad de aproxi-

madamente 6% y se molieron hasta una granulometría de 40 mesh empleando un molino de martillo (Model D, Comminuting Machine, Chicago, USA) y el producto final se colocó en envases de vidrio cerrados herméticamente y almacenados a temperatura ambiente para su uso posterior.

### Extracción de pectinas

Se extrajo pectina de cáscara de cacao a pHs 3, 4 y 5 y temperaturas de 60, 75°C y 90°C, bajo diseño factorial 3<sup>2</sup>, para un total de 9 tratamientos. Se utilizó el método de McCready (13) modificado: dos porciones de 30 g de cáscara de cacao deshidratada y molida fueron colocadas por separado en vasos de precipitado de 1000 mL y se mezclaron con 800 mL de EDTA al 0,5%. Luego se ajustó el pH con HCl 1,0 N ò NaOH 1,0 N, según el caso y se calentó 60 min en baño de María a la temperatura de trabajo. Se enfrió rápidamente la dispersión hasta temperatura ambiente y se filtró dos veces en tela de liencillo. Los sólidos de cada dispersión fueron unidos y colocados en un vaso de precipitado de 1000 mL, se dispersaron con 600 mL de agua destilada para posteriormente ajustar el pH y repetir el proceso de extracción. Todos los extractos se unificaron y se centrifugaron a 2700 g durante 15 min para separar sólidos en suspensión. El extracto obtenido se mezcló con 1,5 volúmenes de etanol al 95% conteniendo HCl al 1,0%, se reposó por 12–15 h, se separó el precipitado por centrifugación a 5000 g por 10 min. El residuo se lavó dos veces con 500 mL de etanol al 70% separando por centrifugación a 5000 g por 10 min. El lavado se repitió una vez con etanol al 95% y luego con 300 mL de acetona. El precipitado se prensó manualmente utilizando un guante de goma y se colocó en una cápsula de vidrio sometándose a secado en una estufa convencional a 40°C hasta peso constante. La pectina extraída se llevó a granulometría de 40 mesh utilizando un micromolino (Cienceware, Belt-at Products, Pequannock, NJ07440, USA). La extracción se realizó por triplicado. Se estimó el rendimiento de extracción como la relación entre el peso de la pectina extraída y el peso inicial de la cáscara seca.

### Análisis de la pectina de cáscara de cacao

A la pectina extraída de cada tratamiento se le determinó el contenido de ácido galacturónico (AGA) (14), contenido de metoxilo (13), grado de esterificación (15) y peso equivalente (13). Además se determinó el grado de gelificación según la metodología de Salazar y col. (16) con algunas modificaciones, para lo cual se prepararon geles con 0,5% de pectina extraída, azúcar en cantidad suficiente para lograr 30% de sólidos solubles en la dispersión final, 0,5% de ácido cítrico, cloruro de calcio (30 mg de calcio/g de pectina) y agua en cantidad suficiente para completar el 100% de los ingredientes. Se calentó el agua hasta 72°C, se añadió lentamente la pectina mezclada con una parte del azúcar en proporción 1:5

p/p. Se continuó calentando la mezcla con agitación constante hasta ebullición, una vez dispersa la pectina, se añadió lentamente el resto del azúcar. Sin dejar de agitar, se continuó el calentamiento hasta alcanzar nuevamente la ebullición (106°C), se añadió el cloruro de calcio disuelto en agua y luego el ácido cítrico, se mezcló y dejó hervir durante 3 min. La dispersión se colocó en envases de plástico y se dejó en reposo por 2 h a temperatura ambiente, para luego determinar la firmeza del gel. Se usó el analizador de textura TA – XT2i (Stable Micro Systems, Haslemere, Surrey, UK), se midió la fuerza de compresión del gel de pectina necesaria para que la aguja recorra una distancia de 8,0 mm a una velocidad de 0,5 mm/s. Las condiciones preestablecidas del equipo fueron: velocidad de preensayo 1,0 mm/seg y velocidad de post – ensayo 10,0 mm/s.

#### Aceptabilidad de una mermelada elaborada con pectina de cáscara de cacao

Se elaboró una mermelada de fresa según la metodología descrita por Tressler y Woodroof (17), para lo cual se utilizó 65,5% de fruta fresca, 34,0% de azúcar, 0,1% de ácido cítrico y 0,4% de pectina. El producto final cumplió con los requisitos exigidos por la Norma venezolana COVENIN 2592-89 (18) sobre mermeladas y jaleas de frutas. A las 24 h de su elaboración se evaluó la aceptabilidad de la mermelada, empleando un panel de consumidores de 60 personas y una escala hedónica de 7 puntos, donde 1 correspondió a “Me dis-

gusta mucho” y 7 a “Me gusta mucho”. Se solicitó a los panelistas sus observaciones sobre las características de la mermelada.

#### Análisis estadístico

Se usó análisis de varianza (ANAVAR) de dos factores para estudiar el efecto del pH y la temperatura sobre el rendimiento de extracción, contenido de AGA, contenido de metoxilo, grado de esterificación y peso equivalente de las pectinas de cáscara de cacao. Se analizó el grado de gelificación de las pectinas que mostraron capacidad gelificante con ANAVAR de un solo factor. Se utilizó la prueba de Duncan para identificar diferencias entre medias. Para los resultados de la escala hedónica se calculó la media y la desviación estandar de los resultados.

## RESULTADOS

En la Tabla 1 se presenta el resumen del ANAVAR de dos factores aplicado a los valores de rendimiento de extracción, contenido de AGA, contenido de metoxilo, grado de esterificación y peso equivalente de la pectina de cáscara de cacao. Los efectos principales y las interacciones influyen significativamente en cada parámetro estudiado, a excepción del efecto del pH sobre el peso equivalente. El ANAVAR aplicado sobre el grado de gelificación indica que existe al menos un tratamiento con una firmeza diferente al resto del grupo.

TABLA 1  
ANAVAR de dos factores aplicado al rendimiento de extracción, contenido de AGA, contenido de metoxilo, grado de esterificación y peso equivalente de las pectinas de cáscara de cacao

Fuente de variación	Rendimiento de extracción	Valor p			
		Contenido de AGA	Contenido de metoxilo	Grado de esterificación	Peso equivalente
Efectos principales pH	0,0000	0,0017	0,0001	0,0003	0,0715
Temperatura	0,0000	0,0000	0,0018	0,0001	0,0000
Interacciones					
pH - temperatura	0,0092	0,0474	0,0000	0,0000	0,0000

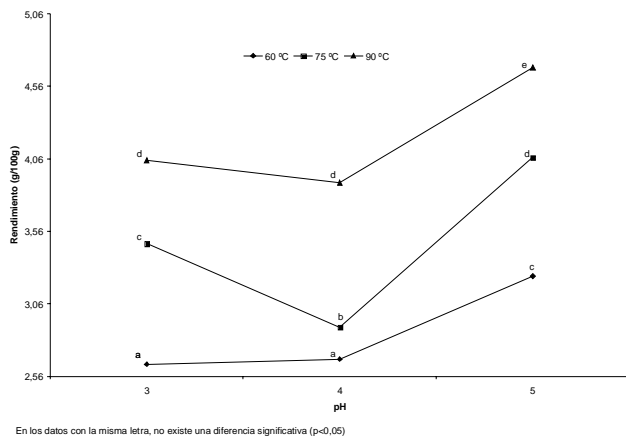
Un valor  $p < 0,05$ , indica efecto estadísticamente significativo

El rendimiento del proceso de extracción de pectinas de cáscaras de cacao bajo nueve (9) tratamientos diferentes se presenta en la Figura 1, se observan variaciones entre 2,64 y 4,69 g/100g. En las curvas de 60 y 90 °C la variable respuesta no genera diferencias a los niveles de pH 3 y 4 y aumenta a

pH 5. En la curva de 75 °C, pH 3 a 4 origina una disminución del rendimiento, con un nuevo incremento a pH 5. A pH constante, hay un aumento del rendimiento de extracción a medida que aumenta la temperatura. Se visualizan 5 grupos de medias diferentes.

FIGURA 1

Efecto del pH y la temperatura sobre el rendimiento de las pectinas extraídas de cáscara de cacao

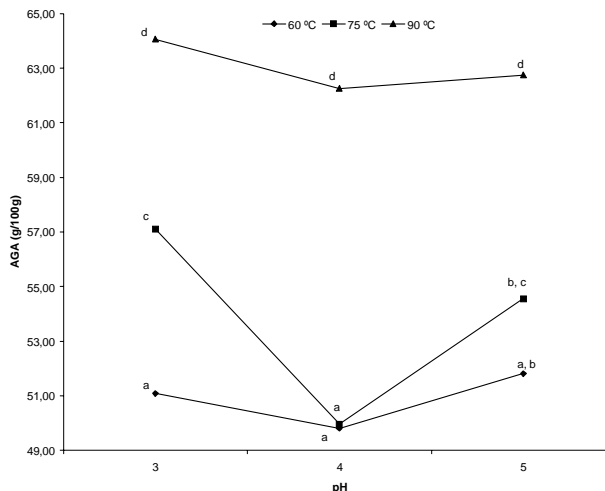


En los datos con la misma letra, no existe una diferencia significativa ( $p < 0,05$ )

En la Figura 2 se presenta el contenido de AGA de las pectinas de cáscaras de cacao, con valores entre 49,81 y 64,06 g/100g. La pureza más alta se obtiene a 90°C, mientras que a 60°C se presentan los valores más bajos. En las curvas de 60 y 90°C, las variaciones en el pH no afectan el AGA de las pectinas de cáscaras de cacao; a 75°C los niveles de pH 3 y 5 presentan valores de AGA similares entre sí y a la vez superiores al determinado a pH 4. La prueba de Duncan presentó 4 grupos de medias diferentes.

FIGURA 2

Efecto del pH y la temperatura sobre el contenido de AGA de las pectinas extraídas de cáscara de cacao



En los datos con la misma letra, no existe una diferencia significativa ( $p < 0,05$ )

La divergencia entre el comportamiento de las curvas de 60 y 90°C y la curva de 75°C evidencia la interacción pH-temperatura con respecto al rendimiento de extracción y contenido de AGA. La interacción se origina de los valores obtenidos a temperatura de 75°C y pH 4.

TABLA 2

Contenido de metoxilo, grado de esterificación, peso equivalente y firmeza del gel de las pectinas de cáscara de cacao

pH	Temperatura (°C)	Metoxilo (g/100g)	Grado de esterificación (%)	Peso equivalente (g/equivalente H <sup>+</sup> )	Firmeza del gel (g fuerza)
3	60	6,72 ± 0,37 <sup>cd</sup>	49,76 ± 1,78 <sup>de</sup>	449,24 ± 7,86 <sup>cd</sup>	325,75 ± 79,11 <sup>a</sup>
3	75	7,18 ± 0,48 <sup>d</sup>	52,20 ± 2,12 <sup>e</sup>	464,61 ± 20,21 <sup>d</sup>	806,03 ± 129,42 <sup>b</sup>
3	90	4,94 ± 0,29 <sup>ab</sup>	38,47 ± 1,80 <sup>ab</sup>	385,59 ± 8,82 <sup>a</sup>	—
4	60	4,84 ± 0,27 <sup>ab</sup>	39,77 ± 0,85 <sup>abc</sup>	413,95 ± 9,50 <sup>b</sup>	—
4	75	5,10 ± 0,22 <sup>ab</sup>	40,99 ± 1,38 <sup>bc</sup>	415,26 ± 5,96 <sup>b</sup>	—
4	90	6,57 ± 0,35 <sup>c</sup>	48,26 ± 2,57 <sup>d</sup>	431,91 ± 22,41 <sup>bc</sup>	422,16 ± 80,23 <sup>a</sup>
5	60	6,45 ± 0,26 <sup>c</sup>	48,79 ± 1,39 <sup>d</sup>	450,50 ± 7,49 <sup>cd</sup>	285,64 ± 58,31 <sup>a</sup>
5	75	5,42 ± 0,14 <sup>b</sup>	42,68 ± 1,73 <sup>c</sup>	419,78 ± 19,87 <sup>b</sup>	—
5	90	4,72 ± 0,36 <sup>a</sup>	37,49 ± 2,09 <sup>a</sup>	385,47 ± 6,25 <sup>a</sup>	—

Resultados expresados como media y desviación estándar de 3 réplicas. En los datos con la misma letra no existe diferencia significativa ( $p < 0,05$ )

El contenido de metoxilo, grado de esterificación, peso equivalente y grado de gelificación de las pectinas de cáscara de cacao se presentan en la Tabla 2. El contenido de metoxilo se ubica entre 4,72 y 7,18 g/100g, el grado de esterificación es de 37,49% a 52,20% y el peso equivalente presenta un intervalo entre 385,47 y 464,61 g/equivalente de H<sup>+</sup>. En los tres casos el efecto de la interacción predomina sobre el efecto individual de los factores pH y temperatura. En el contenido de metoxilo y peso equivalente existen 4 grupos de medias, mientras que en el grado de esterificación se observan 5 grupos. En los resultados de la determinación del grado de gelificación se observa que del total de tratamientos, sólo 4 de ellos poseen capacidad de gelificar en la formulación usada y muestran una firmeza de gel entre 285,64 y 806,03 g fuerza, mientras que en el resto de los casos se forman dispersiones viscosas. Con la prueba de Duncan se obtienen 2 grupos distintos en relación a la firmeza del gel.

## DISCUSION

El rendimiento de extracción y contenido de AGA presentaron un comportamiento dependiente en su mayoría de los efectos principales estadísticamente significativos. La combinación entre el pH y la temperatura fue el factor a considerar en el contenido de metoxilo, grado de esterificación y peso equivalente de las pectinas procedentes de cáscaras de cacao, ya que el efecto de la interacción no permitió generalizar un comportamiento para los factores individuales. Durante el proceso de extracción, las sustancias pécticas precipitaron como una sustancia cristalina al agregar el alcohol etílico acidificado. Después de la centrifugación, se obtuvo el precipitado blanco gelatinoso, similar al descrito por Adomako (11), el cual se tornó de color pardo a los pocos minutos de extraído, posiblemente por la presencia de compuestos fenólicos. Otros autores como Blakemore y col. (19) obtuvieron una fracción de polisacáridos pécticos de color pardo de cáscaras de cacao secadas al sol, procedentes de Tafo, Ghana. Según Francis y Bell (4) el color oscuro en las pectinas extraídas puede ser causada por taninos.

### Rendimiento de la extracción

Los altos rendimientos de la pectina extraída obtenidos a la temperatura de 90°C pueden atribuirse al mayor rompimiento de los enlaces presentes en la protopectina generado por el aumento de temperatura. La protopectina representa un grupo de sustancias insolubles en agua presentes en las paredes celulares vegetales, a partir de las cuales, bajo hidrólisis, se obtienen las pectinas (20). El mayor rendimiento observado a pH 5 puede atribuirse al menor grado de desintegración de la pectina, ya que pHs bajos pueden causar su depolimerización (20). Adomako (11) reportó de 8,0 a 11,0 g/100g de pectinas obtenidas a partir de cáscaras de cacao, mientras que Fontes

(10) indicó 8,0 g/100g del endocarpio de cacao. El rendimiento promedio del proceso de producción de pectina de cáscara de cacao presentado en el estudio actual fue inferior al de las fuentes comerciales y no convencionales, tales como cáscaras de cítricos (25 g/100g), pulpa de manzana (12 g/100g) (10), cabezas de girasol (7,3 g/100g) (21), cáscaras de soya (7 – 16 g/100g) (22), cáscaras de parchita (5,62 - 13,60 g/100g) (23), mucílago de cacao tipo Criollo (7,7 - 12,08 g/100g) y tipo Forastero (5,25 - 7,76 g/100g) (24) y pulpa de remolacha azucarera (7 – 10 g/100g) (25). El posible uso de la cáscara de cacao como fuente de pectina puede justificarse por la enorme cantidad de desechos que se generan de la explotación cacaotera más que por su rendimiento. Francis y Bell (4) describen la cáscara del cacao como materia prima de relativo bajo costo y justifica la extracción de pectinas por razones económicas más que técnicas, ya que las cáscaras frescas requieren ser procesadas rápidamente una vez que se abre el fruto para evitar daños que afecten la fracción de pectina.

### Contenido de AGA de las pectinas extraídas

La temperatura es el factor de mayor incidencia en la pureza de la pectina de cáscara de cacao. Los contenidos más altos de AGA observados a 90°C, se explican por que presuntamente se alcanza un mayor rompimiento de los enlaces presentes en la estructura de la protopectina, provocado por el gran suministro de energía. El efecto del pH se reflejó a 75°C y en el resto de los casos no hubo cambios significativos procedentes de variaciones en este factor. Adomako (26) reportó valores de AGA entre 33,2 y 36,2 g/100g en pectinas de cáscaras de cacao, inferiores a los obtenidos en el estudio. La pureza fue menor a la determinada en las pectinas procedentes de algunas fuentes no convencionales: 66,0 g/100g en pulpa de remolacha azucarera (27), 71,4 a 98,0 g/100g en cabezas de girasol (28), 63,07 a 67,13 g/100g en cáscaras de soya (22) y 60,66 a 71,65 g/100g en cáscaras de parchita (23).

### Contenido de metoxilo, grado de esterificación, peso equivalente y grado de gelificación de las pectinas extraídas

El contenido de metoxilo y el grado de esterificación de las pectinas extraídas (Tabla 2) indican predominio de pectinas de bajo metoxilo, las cuales se caracterizan por un grado de metilación menor a 7,0 g/100g (4, 23, 29) y un grado de esterificación menor a 50,0% (30). Adomako (11) reportó contenido de metoxilo de 3,6 a 4,9 g/100g y grado de esterificación entre 60,0% y 76,3% en pectinas de cáscaras de cacao. El grado de esterificación en el endocarpio de cacao fue 61,8% y para el exudado de cacao fue 68,0% (10). Espina y Moreno (24) reportaron grados de esterificación entre 45% y 69% en el mucílago del cacao tipo Criollo y 60% y 72% para el mucílago del cacao tipo Forastero. Fontes (10) reportó 458,2 y 470,2 g/equivalente de H<sup>+</sup> en pectinas del

endocarpio y del exudado de cacao, respectivamente, valores similares a los aportados en este estudio.

Un aspecto a considerar es el color pardo presente en los geles elaborados, causado por la presencia de compuestos fenólicos en la pectina extraída, lo cual sería una limitante de su uso, pues podría originar la aparición de colores no deseados en la matriz donde se utilice, su uso es recomendable en productos con colores oscuros, tales como mermeladas de fresa o confiterías a base de chocolate, entre otros. Es recomendable determinar el contenido de los compuestos fenólicos responsables de la coloración de la pectina y aplicar un paso adicional para tratar de eliminarlos, si es lo deseado.

Las pectinas con capacidad de formar geles presentaron mayor peso equivalente, contenido de metoxilo y grado de esterificación. Axelos y Thibault (31) señalan que la disminución del grado de esterificación aumenta la habilidad de formar geles en pectinas de bajo metoxilo comportamiento contrario al presentado en el estudio actual. Por tal razón, aquellas pectinas que mostraron capacidad gelificante y que a su vez presentaron un grado de esterificación mayor a 48%, son pectinas de alto metoxilo que forman geles consistentes con azúcar y ácido y podrían utilizarse en la elaboración de mermeladas, jaleas y demás alimentos que requieren de este tipo de producto. Por otra parte, aquellas que no lograron formar geles consistentes y presentaron un grado de esterificación entre 37,49% y 42,68% son pectinas de bajo metoxilo que podrían usarse en la elaboración de productos dietéticos, elaboración de yogures y espesantes de salsas, entre otros. Pilgrim y col. (29) señalan que el margen de clasificación de las pectinas entre alto y bajo metoxilo oscila entre 40,0% y 50,0%. No obstante, también existen otros factores que no fueron estudiados y que pueden influir en la capacidad gelificante, tales como el contenido de ramnosa, grupos acetilos y longitud de las cadenas, entre otros. En este sentido, Adomako (26) reportó un contenido de acetilos en cáscaras de cacao entre 5,2% y 5,6%. Axelos y Thibault (31) señalan que pesos moleculares bajos, presencia de ramnosa y grupos acetilos disminuyen la capacidad gelificante de las pectinas.

La pectina de mejor calidad se obtuvo a pH 4,0 y temperatura de 90°C, ya que además de su capacidad de formar geles en presencia de azúcar y ácido, presenta un rendimiento de 3,89 g/100g y una pureza de 62,26 g/100g de AGA.

#### **Aceptabilidad de una mermelada elaborada con pectina de cáscara de cacao**

De la prueba de aceptabilidad de la mermelada de fresa preparada con la pectina de cáscara de cacao considerada de mejor calidad (pH = 4,0 y T = 90 °C) se observó que el promedio del puntaje se ubicó en 6,27, lo que corresponde al nivel de agrado “Me gusta moderadamente”. Ello indica, que con la pectina extraída de cáscaras de cacao es posible fabricar productos como mermeladas y jaleas que podrían competir en

el mercado nacional. Los panelistas expresaron que la mermelada presentaba “falta de sabor a fresa”, “sabor muy ácido” y “sabor a mermelada de guayaba”. La posible causa de los defectos puede atribuirse al exceso de ácido cítrico, falta de madurez de la materia prima o simplemente una característica que el consumidor desea encontrar en una mermelada con sabor a fresa. La falta de consistencia reportada por algunos panelistas se podría mejorar al aumentar la cantidad de pectina, ya que la proporción usada (0,4%) dista del 0,80% máximo exigido por la normativa nacional (18). Las observaciones realizadas sobre el color de la mermelada de fresa preparada con la pectina de cáscara de cacao fueron en general calificadas como de “buen color”, lo que confirma que las pectinas obtenidas de la cáscara de cacao se pueden usar en aquellos productos con tonalidades oscuras, para así enmascarar su coloración parda sin que se afecte la calidad del producto final.

### **CONCLUSIONES**

A partir de cáscaras de cacao se pueden obtener pectinas con características químicas que podrían ser de interés para uso industrial, sin embargo, es necesario optimizar los parámetros de extracción para aumentar el rendimiento. Los niveles de pH y temperatura de extracción utilizados influyeron significativamente en las características químicas de las pectinas de cáscaras de cacao y a pH 4 y temperatura de 90°C se extrajo la pectina de mejor calidad, con la cual se preparó una mermelada cuyo nivel de agrado fue “me gusta moderadamente”, pero con aspectos mejorables para incrementar su aceptabilidad.

### **AGRADECIMIENTO**

Los autores agradecen al Decanato de Postgrado de la Universidad Simón Bolívar por el financiamiento concedido para el desarrollo de esta investigación y Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA) del estado Miranda por las muestras donadas.

### **REFERENCIAS**

1. Cartay R. El cacao venezolano en el mercado mundial: situación mundial y perspectivas. [Informe final]. Venezuela: CONICIT Agenda Cacao, 1999.
2. López AS, Ferreira H, Llamosas A, Romeu A. Present status of cacao by-products utilization in Brazil. *Rev Theobroma* 1984; 14(4): 271-291.
3. Food and Agriculture Organization (FAO). Base de datos estadísticos de la FAO. FAOSTAT. Disponible en: [www.fao.org](http://www.fao.org). Acceso 15 Sep 2006.
4. Francis BJ, Bell J-MK. Comercial pectin: a review. *Tropical Sci* 1975; 17(1):25-44.

5. Badui S. Química de los alimentos. 3era ed. México: Addison Wesley Longman de México, S.A. de C.V., 1999.
6. Thakur BR, Singh RK, Handa AK Chemistry and uses of pectin – A Review. *Crit Rev Food Sci Nutr* 1997; 37 (1): 47-73.
7. Morillon V, Debeaufort F, Blond G, Capelle M, Voilley A. Factors affecting the moisture permeability of lipid-based edible films: a review. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2002; 42 (1): 67-89.
8. Pastor C, Vargas M, González-Martínez C. Recubrimientos comestibles: aplicación a frutas y hortalizas. *Rev Alim Equip Tecnol* 2005; 197: 130-135.
10. Endress H-U. Nonfood uses of pectin. En: Walter RH. *The chemistry and technology of pectin*. California: Academic Press, Inc, 1991:251-268.
11. Fontes PR. Estudo da pectina do mel e da casca do fruto de cacao. *Rev Theobroma* 1972; 2(2): 49-51.
12. Adomako D. Cocoa pod husk pectin. *Phytochemistry* 1972; 11: 1145-1148.
13. Srirangarajan AN, Shrikhande AJ. Characterization of mango peel pectin. *J Food Sci* 1977; 42 (1): 279-280.
14. McCready RM. Pectin. En: Joslyn M. *Methods in Food Analysis*. Second edition. New York: Academic Press, 1970: 565-599.
15. McCready RM, McComb EA. Extraction and determination of total pectin materials in fruits. *Anal Chem* 1952; 24: 1986-1988.
16. Luh B, Dastur K. Texture and pectin in canned apricots. *J Food Sci* 1966; 31(2): 178-183.
17. Salazar E, Paz S, Mata M. Cuantificación y caracterización de pectinas en cáscara de mango. *Gest Tecnol* 1987; 6: 53-58.
18. Tressler DK, Woodroof JG. *Food products formulary*. Vol. 3. Connecticut - USA: The Avi Pub Company, INC, 1976.
19. COVENIN. 2592-89. Comisión Venezolana de Normas Industriales. *Mermeladas y Jaleas de Frutas*. Venezuela: Ministerio de Fomento.
20. Blakemore WR, Dewar ET, Hodge RA. Polysaccharides of the cocoa pod husk. *J Sci Food Agric* 1966; 17: 558-560.
21. Joslyn MA. The chemistry of protopectin: a critical review of historical data and recent developments. *Adv Food Res* 1962; 11:1-107.
22. Miyamoto A, Chang KC. Extraction and physicochemical characterization of pectin from sunflower head residues. *J Food Sci* 1992; 57: 1439 – 1443.
23. Monsoor MA, Proctor A. Preparation and functional properties of soy hull pectin. *J Am Oil Chem Soc* 2001; 78(7):709-713.
24. Corona M, Díaz A, Páez G, Ferrer JR, Mármol Z, Ramones E. Extracción y caracterización de pectina de la corteza de parchita. *Rev Fac Agron (LUZ)* 1996; 13: 785-791.
25. Espina EJ, Moreno MA. Factibilidad de producción de pectinas a partir del mucílago del cacao. [Trabajo especial de Grado para optar al título de Ingeniero Químico]. Barquisimeto, Venezuela: UNEXPO. Universidad Experimental Politécnica 2002.
26. Wang CC, Chang KC. Beet pulp and isolated pectin physicochemical properties as related to freezing. *J Food Sci* 1994; 59 (6): 1153-1154.
27. Adomako D. Chemical characterization of cocoa pectin. *Chem Ind* 1974; 21: 873-874.
28. Michel F, Thibault J-F, Mercier C, Heitz F, Pouillaude F. Extraction and characterization of pectins from sugar beet pulp. *J Food Sci* 1985; 50: 1499-1502.
29. Chang KC, Dhurandhar N, You X, Miyamoto A. Sunflower head residue pectin extraction as affected by physical conditions. *J Food Sci* 1994; 59(6): 1207-1210.
30. Pilgrim GW, Walter RH, Oakenfull DG. Jams, jellies, and preserves. En: Walter RH. *The chemistry and technology of pectin*. California: Academic Press, Inc, 1991: 23-50.
31. Hoefler AC. Other pectin in food products. En: Walter RH. *The chemistry and technology of pectin*. California: Academic Press, Inc, 1991:51 – 66.
32. Axelos MA, Thibault J-F. The chemistry of low-methoxyl pectin gelation. En: Walter RH. *The chemistry and technology of pectin*. California: Academic Press, Inc, 1991:109-118.

Recibido: 25-08-2007

Aceptado:07-02-2008

# Uso del cowpea (*Vigna unguiculata*) en mezclas con frijol común (*Phaseolus vulgaris*) en el desarrollo de nuevos productos alimenticios

Claudia Maritza López Guerra y Ricardo Bressani

Centro de Ciencia y Tecnología de Alimentos  
Instituto de Investigaciones, Universidad del Valle de Guatemala, Guatemala, C.A.

**RESUMEN.** El objetivo del presente estudio fue el de evaluar el cowpea (*Vigna unguiculata*) como sustituto parcial del frijol común (*Phaseolus vulgaris*) como pasta o como harina. El grado de sustitución sería aquel en el cual no se detecte el sabor del frijol cowpea alterando el sabor del frijol común. Para la ejecución del estudio se utilizó la variedad Peruchin Negro del frijol cowpea y el ICTA Ligero del frijol común con un contenido de proteína de 24.4% y 18.7% respectivamente. No hubo diferencias significativas en otros nutrientes. Se postuló que el sabor característico a tierra del cowpea era debido al contenido de polifenoles, la cual se redujo con tratamientos de remojo, cocción y descascarado. Se estableció que los niveles de polifenoles logrados con 9 horas de remojo y 30 minutos de cocción eran iguales a los obtenidos con el descascarado. Con estos procedimientos previos en el cowpea se prepararon 2 pastas de frijol frito a base de una mezcla de frijol negro/cowpea (con y sin cáscara) en la relación 70/30 las cuales fueron enlatadas y una mezcla de harina precocida en las mismas proporciones. Estas pastas se sometieron a pruebas sensoriales de tipo triangular y de perfil descriptivo. En el perfil descriptivo se evaluó: color, textura, punto de sal y sabor, en una escala de 10 puntos. Las evaluaciones sensoriales de las 2 mezclas de frijol no mostraron diferencia significativa respecto al sabor del frijol común. El contenido de proteína en las mezclas fue más alto debido a la mayor concentración de este nutriente en el cowpea. Aunque las mezclas de frijol común con cowpea entero y sin cáscara dieron mayor valor proteico (NPR) que el de frijol solo, la diferencia no fue estadísticamente significativa. **Palabras clave:** Frijol común (*Phaseolus vulgaris*), frijol cowpea (*Vigna unguiculata*), contenido de polifenoles, preparación de pastas y harinas de mezclas de leguminosas.

**SUMMARY.** Use of cowpea (*Vigna unguiculata*) in mixtures with common beans (*Phaseolus vulgaris*) for the development of new food products. The objective of the study was to evaluate cowpeas (*V. unguiculata*) as a partial substitute of common beans (*P. vulgaris*) as a paste or as cooked dry flour. The degree of substitution would be that in which the flavor of cowpeas is not detected in the mixture with common beans. The study was developed utilizing the Black Peruchin variety of cowpea and the ICTA Ligero for common beans, the latter with 18.7% protein and cowpeas with of 24.4%. Other nutrients in the samples were similar. It was believed that the characteristic earth flavor of the cowpea was due to its content of polyphenolic compounds. To eliminate such compounds, the samples were soaked in water for various periods of time and cooked. Reduction was also achieved by dehulling. It was found that the polyphenolic levels obtained with 9 hrs. of soaking and 30 min. of cooking in water were equal to those measure with mechanical dehulling. Applying these process to cowpeas, two fried beans pastes were prepared with cowpeas (with and with out hulls) in a mixture of 70 common beans and 30 cowpeas. Likewise a precooked flour of the two legume grains in the same proportion was also tested. These samples were subjected to sensory trials using a triangular method, and by a descriptive profile. In these the following were evaluated: color, texture, salt level, and flavor, using a 10 point scale. The sensory evaluation of the two beans mixtures showed no significant differences with respect to common bean flavor. The protein content of the mixtures was high due to the high protein content of cowpeas. Even though the mixtures of common beans and cowpeas with and with out seed coat gave higher protein quality values as compared to common beans alone, the difference was not statistically significant. **Key words:** Common beans (*P. vulgaris*), cowpea (*V. unguiculata*), polyphenolic content, bean mixtures as fried pastas and precooked flour.

## INTRODUCCION

Los resultados de varios estudios (1-3) han demostrado que la combinación de un cereal con una leguminosa en una proporción por peso de 7 a 3 mejora la calidad proteica de las dietas. Sin embargo, la baja disponibilidad del frijol (*P. vulgaris*) y su alto costo hace difícil que este alimento se pueda incorporar a la dieta en la proporción requerida (4). El nivel de consumo requerido de frijól se podría lograr aumentando

la producción, la disponibilidad y el acceso del *P. vulgaris*. Una alternativa para aumentar la disponibilidad del frijól podría ser el desarrollo de harinas compuestas de leguminosas de grano, en la elaboración de alimentos convencionales de *P. vulgaris* como son las pastas de frijól fritas o las harinas deshidratadas (7,8).

En Guatemala y otros países de Centro América se consume preferiblemente *P. vulgaris*, el de color negro en Guatemala y Costa Rica y el rojo en El Salvador, Honduras y

Nicaragua (5,6). El consumo es como frijol cocido, pero también como pasta frita de frijol cocido o de harina precocida de frijol (9).

Los tiempos de cocción del frijol en condiciones de presión atmosférica se caracterizan por ser extensos, y cuando la posibilidad existe se utiliza una cocción bajo presión. El tiempo de cocción y la demanda que han tenido los productos del frijol ha promovido el desarrollo de pastas de frijol con aceite en presentaciones de latas o en empaque plástico. También se han ido desarrollando harinas de frijol precocido en donde solo es necesario agregar agua y cocinar para obtener una sopa o pasta sazonada con aceite (9).

La composición química del *P. vulgaris* es bastante parecida a la de *Vigna unguiculata*, aunque esta última contiene un poco más de proteína (21.80% vs. 24.8%) (10,11). Así mismo, el contenido de aminoácidos esenciales es bastante similar (12) siendo ambos materiales deficientes en aminoácidos azufrados. Las dos leguminosas contienen cantidades variables de factores antifisiológicos por lo tanto es importante su adecuado procesamiento (11). Por otro lado se ha indicado que la calidad de la proteína del cowpea es superior a la del frijol, posiblemente por la digestibilidad de la proteína que es mayor para la del cowpea (13,14). Sin embargo, el cowpea es una leguminosa que tiene una cáscara gruesa y un sabor que se ha descrito como tierra que lo diferencia del sabor del *P. vulgaris*, sabor arraigado al gusto sensorial de la población consumidora del frijol. Se ha sugerido que el sabor diferente del cowpea en comparación con el *Phaseolus vulgaris* es debido al contenido de polifenoles, por lo que en el presente informe se evaluaron varios métodos de remojo, cocción y remoción física de la cáscara para reducir el nivel de polifenoles y se correlacionó el método más efectivo con una mejora en el sabor del frijol *Vigna unguiculata* para poder introducirlo en mezclas con el frijol *Phaseolus vulgaris*.

El objetivo del presente estudio fue evaluar el cowpea (*Vigna unguiculata*) como sustituto parcial del frijol común (*Phaseolus vulgaris*) en productos alimenticios. El grado de sustitución sería aquel en el cual no se detecte el sabor del frijol cowpea para lograr una aceptación sensorial por parte de la población consumidora de frijol.

## MATERIALES Y METODOS

Se trabajó con la variedad de frijol negro *P. vulgaris* denominada ICTA Ligero, desarrollada y obtenida del Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícola (ICTA) en Guatemala. El cowpea utilizado fue la variedad de color negro Peruchin Negro obtenido en la misma institución. Muestras de las dos leguminosas de grano fueron almacenadas en frío hasta el momento de análisis químico y su uso en los estudios de los efectos de procesamiento para remover polifenoles.

La composición química proximal se obtuvo a través de la metodología de la AOAC (15) en duplicado y el contenido de carbohidratos por diferencia. El análisis del contenido de polifenoles de las muestras de frijol crudas y procesadas se llevó a cabo con el reactivo de Folin Ciocalteu (16) expresado como catecol. El contenido de antocianinas se determinó por espectrofotometría expresadas como pelargonidina (17).

### Procesamiento de los frijoles para la reducción en polifenoles

Para estos propósitos, los tratamientos estudiados fueron: a) El tiempo de remojo, para lo cual las dos leguminosas fueron sumergidas en agua destilada por 9, 18 y 27 horas a temperatura ambiente (23 – 25°C), b) El tiempo de cocción por un tiempo determinado y el intercambio de agua durante la cocción, en este caso, el frijol remojado fue colocado en agua hirviendo (96°C) por 10 ó 30 minutos. Se descartó el agua de cocción y el frijol cocido fue deshidratado. El intercambio de agua se hizo cambiando el agua de cocción cada 5 minutos, c) El descascarado en el frijol cowpea antes de la cocción. En este caso, el frijol cowpea seco se colocó en una perladora con discos que eliminaban la cáscara. El tiempo de residencia fue de 8 minutos y la eliminación de la cáscara llegó a ser casi en el 90%. Los productos de estos procesos fueron analizados únicamente por su contenido de polifenoles en la materia seca.

### Preparación de una mezcla de *Phaseolus vulgaris*/cowpea en la proporción 70/30 con el cowpea con y sin cáscara, en la forma de pasta y de harina

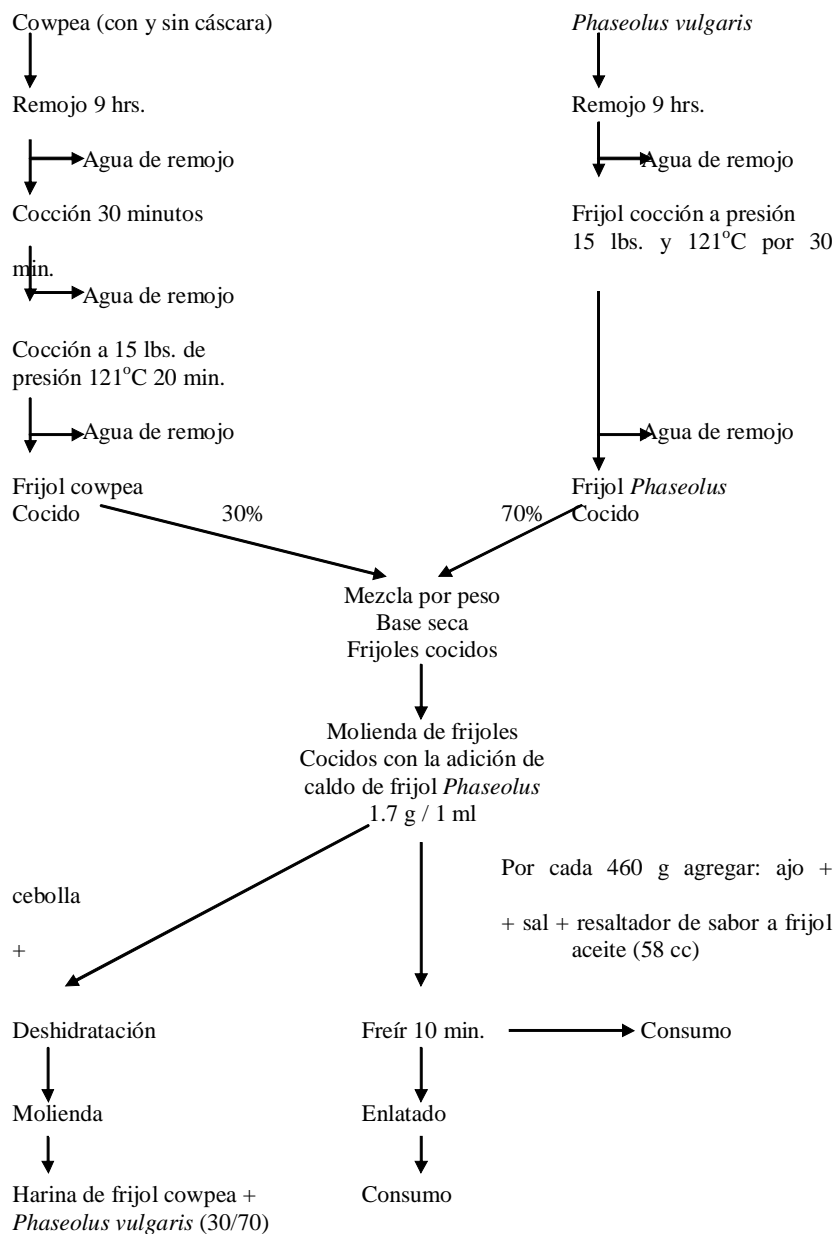
Para estos propósitos se utilizó la información de la investigación anteriormente descrita sobre la eliminación de los polifenoles y se integro todo en el proceso descrito en la Figura 1. Las condiciones de procesamiento indicadas en la Figura 1 son el resultado de las condiciones más adecuadas para reducir los niveles de taninos, que fue el objeto de la primera parte de este estudio.

### Evaluación sensorial

Las mezclas de los frijoles (*Phaseolus + cowpea*) se evaluaron mediante una prueba triangular y además se llevó a cabo un perfil descriptivo para determinar la aceptabilidad en términos de color, textura, punto de sal y sabor (18,19). Para evaluar la significancia de los resultados de la prueba triangular se utiliza la Tabla binomial de un extremo. Esta es apropiada ya que se sabe que una muestra es diferente y por lo tanto hay una posibilidad de respuesta correcta. La probabilidad de elegir por casualidad la muestra correcta es 33%.

FIGURA 1

Proceso de preparación de frijol enlatado y/o harina de frijol precocido de una mezcla 70% de *P. vulgaris* y 30% cowpea



### Evaluación de la calidad proteínica de la mezcla 70/30 de *P. vulgaris* y cowpea con y sin cáscara

Para estos fines se prepararon dietas a un 10% de proteína de la respectiva mezcla de leguminosas y de caseína como proteína de referencia de acuerdo a los datos indicados en la Tabla 1. Las dietas fueron suplementadas con una mezcla vitamínica y una mineral y 5% de aceite de soya. Cada dieta fue ofrecida ad libitum a grupos de 8 ratas Wistar de 22 días

de edad, mitad hembras y mitad machos distribuidas por peso y colocadas en jaulas individuales por un período de 14 días de acuerdo al método de NPR (20). Para la corrección de pérdidas endógenas de nitrógeno se usó un grupo adicional de 8 ratas alimentadas con una dieta apteica por 14 días. Además de la determinación del NPR se hicieron recolecciones de heces de cada rata por 6 días para la determinación de la digestibilidad aparente de la proteína.

TABLA 1  
Composición de ingredientes de las dietas experimentales (g/100g)

Dietas Ingredientes	Fríjol	Fríjol Cowpea sin Cáscara 70/30	Fríjol Cowpea con Cáscara 70/30	Caseína	DLN
Fríjol Negro – 100%	54.49	-	-	-	-
Fríjol Negro 70 + Fríjol cowpea entero 30%	-	51.76	-	-	-
Fríjol Negro 70% + Fríjol cowpea sin cáscara 30%	-	-	52.25	-	-
Caseína	-	-	-	11.00	-
Minerales*	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00
Aceite	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00
Vitaminas**	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Almidón	35.51	38.24	37.75	79.00	90.00
TOTAL	100	100	100	100	100

\* Dyets No. 210052 Mineral Mix. \*\* AIN-93 Vitamin Mixture (DYETS No. 310025)

\*\*\* DLN Dieta Aproveitosa

### Análisis estadístico

Los resultados de composición química proximal, los de cocción y contenido de polifenoles y antocianinas y los biológicos (NPR y digestibilidad) fueron analizados estadísticamente por el análisis de varianza y por la prueba de amplitud múltiple de Duncan con las herramientas del programa Excel.

## RESULTADOS

### Composición química materia prima

La composición química proximal de las dos leguminosas de grano utilizadas en el presente estudio se describen en la Tabla 2. Los datos fueron analizados estadísticamente habiéndose encontrado que la diferencia entre leguminosas en su contenido de humedad y proteína fueron estadísticamente significativas y no así en los otros componentes químicos.

TABLA 2

Composición química proximal del frijol crudo (*P. vulgaris*) y cowpea (*V. unguiculata*) g/100g (base seca)

Nutriente	<i>P. vulgaris</i> ICTA Ligerero	<i>V. unguiculata</i> Peruchin Negro	Diferencia entre muestras
Humedad	9.68	11.68*	S
Proteína	18.71	24.43*	S
Grasa	2.97	2.21	NS
Cenizas	4.75	4.20	NS
Fibra	3.15	5.79	NS
Carbohidratos	60.75	51.69	NS

\* Diferente al frijol significativamente.

S= Significativo NS= No Significativo

### Efecto de varios tratamientos húmedos y de cocción sobre contenido de polifenoles

La Tabla 3 y 4 resume los efectos de varios tratamientos de procesamiento descritos sobre el contenido de catecol (Tabla 3) y antocianinas (Tabla 4) en las dos muestras de leguminosa de grano. El contenido de polifenoles y antocianinas en los frijoles crudos fue significativamente mayor para el frijol cowpea.

TABLA 3

Efecto de varios tratamientos sobre el contenido de polifenoles (catecol mg/100 g) del cowpea y del frijol (base seca)

Tratamiento	Cowpea	Frijol Negro
Crudo	280.7a	153.3a
Remojado 9 hrs.	176.5b	73.7b
Remojo 9 hrs. + 10 min. cocción	66.1c	27.8cf
Remojo 9 hrs. + 20 min. cocción	48.7d	19.4ef
Remojo 9 hrs. + 30 min. cocción	38.7ef	24.0cde
Remojo 9 hrs. + 10 min. cocción con cambio en el agua	59.8f	-
Remojo 9 hrs. + 30 min. cocción con cambio de agua	39.1f	-
Remoción de cáscara	33.4h	-

Letras diferentes indican diferencia estadística significativa ( $p < 0.05$ ) en sentido vertical.

TABLE 4  
Efecto del remojo y cocción sobre el contenido de antocianinas (Pelargonidina) en el cowpea y fríjol (mg/100 g)

Tratamiento	Cowpea	Fríjol
Crudo	22.6	14.8
Remojado 9 hrs.	15.7	3.6 (14 hrs.)
Remojado 18 hrs.	8.0	3.7
Remojado 27 hrs.	7.3	-
Remojado 18 hrs. + cambio de agua	7.6	-
Remojado 9 hrs. + 5 min. cocción	8.5	1.6
Remojo 9 hrs. + 10 min. cocción	4.0	-
Remojo 9 hrs. + 20 min. cocción	2.3	-
Remojo 9 hrs. + 30 min. cocción	2.6	-

- El análisis no se llevo a cabo.

Las evaluaciones del efecto del remojo en el contenido de polifenoles se llevó a cabo después de 9 horas de remojo ya que tiempos prolongados de remojo favorecen la germinación del fríjol. El efecto de 9 horas de remojo fue más significativo para el fríjol común ya que el contenido de polifenoles disminuyó aproximadamente 2 veces su cantidad inicial mientras que con el cowpea la disminución del contenido de polifenoles fue alrededor de 1.6 veces la cantidad inicial.

El efecto del tiempo de cocción se midió después de llevar a cabo el remojo del fríjol durante 9 horas. La disminución de polifenoles después de 10 y 20 minutos de cocción fue similar y proporcional para los 2 frijoles ya que el contenido de polifenoles disminuyó 2.6 veces y 3.6 veces para el fríjol cowpea y *Phaseolus vulgaris* respecto a la cantidad de polifenoles después de 9 horas de remojo. El efecto de 30 minutos de cocción tuvo un efecto significativo para el fríjol cowpea mientras que para el *Phaseolus Vulgaris* se dio un pequeño incremento en el contenido de polifenoles. El cambio de agua a los 10 y 30 minutos de cocción no cambió el contenido de polifenoles con solo 10 y 30 minutos de cocción.

El efecto del remojo en la disminución del contenido de antocianinas fue significativamente más marcado para el fríjol cowpea (Tabla 4). En el fríjol cowpea el efecto de 9 y 18 horas de remojo tiene un efecto significativo en la disminución de antocianinas. Tiempos más largos de remojo no tienen ningún efecto significativo en la disminución de antocianinas sino más bien se promueve la germinación del fríjol. En el fríjol *Phaseolus Vulgaris* después de 9 horas de remojo se alcanzan valores más bajos de antocianinas los cuales no se alcanzan con el fríjol cowpea después de 27 horas de remojo.

El efecto del tiempo de cocción en la disminución de antocianinas (Tabla 4) fue proporcional y el efecto más marcado para el fríjol cowpea se dio después de 20 minutos de cocción. Para el fríjol *Phaseolus Vulgaris* después de 5 minutos de cocción el contenido de antocianinas fue tan bajo que el fríjol cowpea no pudo alcanzar este valor después de 20 minutos de cocción.

### Efecto del descascarado mecánico

Se midió el efecto del descascarado por fricción mecánica en el contenido de polifenoles del fríjol cowpea y se pudo determinar que después de quitarle la cáscara al fríjol el contenido de polifenoles tiene valores cercanos (33.4 mg %) (Tabla 5) a los alcanzados después de 9 horas de remojo y 30 minutos de cocción (38.7 mg/100g) (Tabla 3). Esto comprueba que el contenido de compuestos polifenólicos no se encuentra únicamente en la cáscara sino que en todo el fríjol.

TABLE 5  
Efecto del descascarado sobre el contenido de polifenoles en el fríjol cowpea

Tratamiento	Catecol mg/100 g
Crudo con cáscara	280.7
Crudo sin cáscara	33.4
% Eliminación	88.1

TABLE 6  
Análisis estadístico de la prueba triangular de sabor de la mezcla fríjol (70:30) *Phaseolus Vulgaris* con cowpea sin cáscara

X (Número de panelistas que identificaron la mezcla de fríjol)	N (Número total de panelistas que realizaron la prueba)	Probabilidad de acuerdo a la tabla binomial de un extremo (X=14, n=16)	Existe diferencia significativa entre la mezcla de fríjol y el fríjol <i>Phaseolus vulgaris</i>		Criterio aplicado
			SI	NO	
16	18	0.001	x		Dado que la probabilidad es menor a 0.05 se puede concluir que la mezcla de fríjol es significativamente diferente al fríjol <i>Phaseolus vulgaris</i> .
5	11	0.289		x	Dado que para tener significancia se exige una probabilidad de 0.05 o menos, se podría concluir que no hubo diferencia significativa entre las muestras

Con los tratamientos efectuados se pudo determinar que aunque el descascarado disminuye significativamente el contenido de compuestos polifenólicos, este tratamiento tiene el inconveniente de disminuir el rendimiento del fríjol por lo tanto con 9 horas de remojo y 30 minutos de cocción se puede lograr valores tan bajos a los alcanzados después de quitarle la cáscara al fríjol.

### Mezcla de frijol (70/30) *Phaseolus vulgaris* cowpea sin cáscara

El análisis de antocianinas y polifenoles demostró que al quitarle la cáscara al cowpea el contenido de éstos compuestos disminuye significativamente.

Se utilizó cowpea descascarado en la mezcla con frijol *Phaseolus*. El cowpea descascarado se mantuvo en remojo durante 9 horas y luego se llevó a cabo la cocción del frijol a presión.

### Mezcla de frijol (70/30) *Phaseolus vulgaris* y cowpea con cáscara

El análisis de antocianinas y polifenoles demostró que el remojo y la cocción en agua hirviendo favorece la extracción de éstos compuestos. Por lo tanto el procesamiento del cowpea involucró un tiempo de remojo de 9 horas y 30 minutos de cocción en agua hirviendo posteriormente se llevó a cabo la cocción del frijol bajo condiciones de presión. En la preparación del volteado o la fritura del frijol se aumentó la proporción de aceite. El aumento en la proporción de aceite se calculó en base a la cantidad de aceite que lleva incorporado el frijol volteado enlatado que se vende comercialmente.

### Composición química de la mezcla de frijol *Phaseolus vulgaris*/cowpea (70:30)

La composición química de la pasta de frijol de *P. vulgaris* 70 y cowpea 30 se describe en la Tabla 7 en la cual también se incluye los valores químicos de una muestra comercial de frijol enlatado. Existen diferencias como era de esperarse en proteína y en el contenido de grasa. La mayor concentración de proteína en la mezcla posiblemente es debido al mayor contenido de este nutriente en el cowpea.

Finalmente, la Tabla 8 resume la composición química proximal de frijol solo y de harinas compuestas precocidas (Figura 1) de *Phaseolus vulgaris* (70) y cowpea (30). La mezcla demostró contener más proteína debido al cowpea. Los otros valores químicos son muy similares entre muestras.

TABLA 7

Composición química proximal de Frijol enlatado de una mezcla de *P. vulgaris* y cowpea (70/30) y una muestra comercial de solo frijol, (g %)

Nutriente	Experimental	Muestra Comercial
Humedad	41.81	39.50
Proteína	14.46	9.53
Grasa	11.16	15.72
Fibra	6.46	7.66
Cenizas	3.76	1.24
Carbohidratos	22.35	26.35

TABLA 8

Composición química de harinas procesadas de frijol y de frijol + cowpea (g %) base seca

Nutriente	Frijol	Frijol + Cowpea
Humedad	4.50	4.67
Proteína	19.02	21.85
Grasa	1.84	2.22
Fibra	5.21	5.90
Cenizas	2.82	3.48
Carbohidratos	66.61	61.88

### Análisis biológico de las mezclas de frijol *Phaseolus vulgaris*/cowpea *Vigna unguiculata* (70:30)

Las mezclas de frijol fueron sometidas a una evaluación biológica con ratas en crecimiento, los resultados de los cuales se detallan en la Tabla 9. La mezcla 70/30 de *Phaseolus* y cowpea con o sin cáscara se tradujo en un aumento en peso mayor sobre el peso del grupo alimentado con solo frijol, sin embargo esta diferencia no alcanza significancia estadística. Lo mismo ocurrió con el valor de NPR que fue de 84.25% del valor de caseína, siendo 77% el del frijol solo. La digestibilidad se comportó de la misma forma, habiendo un efecto por la ausencia de la cáscara que no es estadísticamente significativa.

TABLA 9

Calidad de la proteína (NPR) del frijol común y de mezcla de frijol común y cowpea (70/30)

Fuente de proteína	Aumento en peso, g	Alimento Ingerido, g	NPR	NPR Relativo Caseína %	Digestibilidad aparente de la Ppoteína %
Frijol común (Fc)	33a	146a	2.57a	77	66.4a
Fc + Cowpea con cáscara	40a	143a	2.86a	85	66.4a
Fc + Cowpea sin cáscara	46a	164b	2.81a	84	70.1a
Caseína	63b	206b	3.36b	100	94.5b

Letras diferentes indican diferencia estadística significativa ( $p < 0.05$ )

## DISCUSION

### 1. Composición química

El frijol cowpea de la variedad Perunchín negro, resultó tener un contenido de proteína significativamente mayor (24.43%) que el contenido de proteína del frijol *Phaseolus vulgaris* de la variedad Icta Ligero (18.71%).

El bajo contenido de proteína de este frijol respecto a la media teórica probablemente se debe a que este frijol ha sido manipulado genéticamente para aumentar su resistencia al virus del Mosaico Dorado para fines de producción.

El alto contenido de proteína del cowpea Perunchín negro lo hace una variedad apropiada para aumentar el contenido de proteína del frijol Icta Ligero, mediante su uso en mezclas. Tanto el *Phaseolus vulgaris* como el cowpea tuvieron valores de humedad menores al 12%. Sin embargo, el cowpea tuvo un contenido de humedad mayor (11.68%) que el *Phaseolus vulgaris* (9.68%), esta diferencia en el contenido de humedades probablemente se deba a que el cowpea provenía de un frijol recién cosechado, mientras que el *Phaseolus vulgaris* tenía mas tiempo de estar almacenado.

Respecto al contenido de fibra dietética y de cenizas no hubo diferencia significativa entre el frijol *Phaseolus vulgaris* y el cowpea.

### 2. Procesamiento y contenido de polifenoles

El objetivo principal del análisis de polifenoles y antocianinas en el frijol y el cowpea fue el de evaluar el efecto que tienen distintos tratamientos en la disminución de estos componentes que se caracterizan por tener un sabor descrito como a tierra, lo cual lo hace no ser aprovechado para consumo humano en países latinoamericanos, en donde el sabor del frijol *Phaseolus vulgaris* se encuentra arraigado.

Dado que uno de los objetivos principales del estudio es desarrollar una mezcla de las dos leguminosas de grano se desea determinar el tratamiento que conlleve a una mayor reducción de polifenoles y antocianinas para poder procesar el frijol cowpea en una mezcla de frijol y determinar si el tratamiento efectuado mejora el sabor de la mezcla del frijol.

**2.1 Efecto del remojo.** El remojo es una práctica muy utilizada por las amas de cada mundialmente. En el remojo el frijol se hidrata, con la ventaja de disminuir el tiempo de cocción. En el caso del *Phaseolus vulgaris* el remojo tiene la desventaja de extraer los pigmentos siendo el color un atributo importante que mejora la calidad sensorial del producto. Por lo tanto algunas industrias escaldan el frijol con vapor para inactivar enzimas y mantener el color del frijol.

En el caso del cowpea se desea aprovechar la propiedad hidrosoluble de los pigmentos del frijol, entre estos las antocianinas ya que se cree que estos compuestos están relacionados con el sabor característico a tierra de este frijol. El solvente usado para la extracción tuvo un pH de 3 ya que

las antocianinas son más solubles en pH ácidos.

El contenido de polifenoles (Tabla 3) en el frijol cowpea crudo (280.69 mg catecol/100 g frijol) resultó ser 1.83 veces mayor que el contenido en el frijol *Phaseolus vulgaris* (153.32 mg catecol/100 g frijol). El efecto de 9 horas de remojo fue mas importante en el frijol cowpea ya que el cambio de la concentración fue mayor que en el frijol *Phaseolus vulgaris*, pero dado que el frijol cowpea tiene una concentración mayor de polifenoles en el grano crudo, la concentración de polifenoles después de 9 horas de remojo fue mayor.

El remojo del frijol cowpea se llevó a cabo durante 9, 18 y 27 horas. Como se puede ver (Tabla 4) hubo una extracción significativa de antocianinas en las primeras 9 horas de remojo y de 9 a 18 horas ocurre otra disminución significativa de estos compuestos. Sin embargo después de 18 horas de remojo, el agua de remojo del cowpea tiene espuma y un olor ha fermentado. Por lo tanto se recomienda llevar el remojo del cowpea durante 9 horas. En el remojo del cowpea se evaluó el efecto del cambio de agua durante 18 horas, esto se llevo a cabo para evaluar si la saturación de agua con estos compuestos dificulta una mayor extracción. Los resultados demostraron que 18 horas de remojo con cambio de agua no promueve una extracción significativamente mayor de antocianinas.

El contenido de antocianinas en el grano crudo del frijol *Phaseolus vulgaris* es significativamente menor al contenido del frijol cowpea. El remojo del frijol *Phaseolus vulgaris* se llevó a cabo durante 14 y 18 horas y se puede observar (Tabla 4) que entre 14 y 18 horas no hay un cambio significativo en el contenido de antocianinas. Si se compara el efecto de 18 horas de remojo entre el frijol *Phaseolus vulgaris* y cowpea se puede ver que el contenido de antocianinas en el *Phaseolus vulgaris* es significativamente menor (36 mg pelargonidina/100 g frijol) que en el frijol cowpea (8.0 mg pelargonidina/100 g frijol), esto demuestra que los pigmentos del frijol *Phaseolus vulgaris* son mas hidrosolubles que los del cowpea.

**2.2 Efecto de la cocción.** Se evaluó el efecto de la cocción en agua hirviendo para determinar el efecto que tiene la cocción en la extracción de compuestos polifenólicos.

La concentración de polifenoles y antocianinas disminuyó significativamente en el frijol *Phaseolus vulgaris* y cowpea al aumentar el tiempo de cocción. Respecto a las antocianinas (Tabla 4) en el frijol cowpea la concentración de estos compuestos mantuvo un comportamiento decreciente hasta los 20 minutos de cocción. De igual forma la concentración de polifenoles en el cowpea disminuyó al aumentar el tiempo de cocción. El efecto mas marcado en la disminución de los polifenoles se dio después de 10 minutos de cocción y a diferencia de las antocianinas, la concentración de polifenoles mantuvo un comportamiento decreciente después de 30 minutos de cocción.

Se llevo a cabo el cambio de agua durante la cocción del cowpea después de 10 y 30 minutos de cocción, para evaluar

si este tratamiento favorece una mayor extracción de compuestos polifenólicos. Respecto a la concentración de polifenoles y antocianinas se determinó que 30 minutos de cocción no marca una diferencia significativa al cambiar el agua durante la cocción. El cambio de agua después de 10 minutos de cocción no favoreció un cambio significativo en la concentración de antocianinas, mientras que en la concentración de polifenoles se noto una mayor extracción de compuestos polifenólicos al cambiar el agua durante los 10 minutos de cocción.

Se midió la concentración de polifenoles en el cowpea descascarado y a pesar de que el fríjol no tiene cáscara, hubo presencia de compuestos polifenólicos de 33.42 mg catecol/100 g fríjol, valor cercano a la concentración de polifenoles en el cowpea después de 30 minutos de cocción (38.19 mg catecol/100 g fríjol). Esto demuestra que los compuestos polifenólicos se encuentran presentes en todo el grano y por lo tanto la mejora en el sabor del frijol se puede lograr después de 30 minutos de cocción.

Los datos muestran que las antocianinas y los polifenoles del cowpea no son tan solubles como las del frijol *Phaseolus vulgaris*.

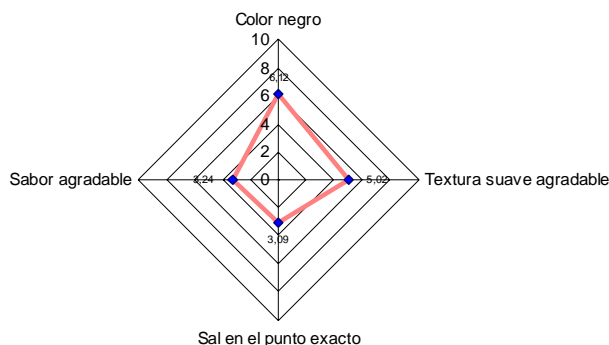
**2.3 Desarrollo de productos.** El análisis de polifenoles y de antocianinas demostró que al quitarle la cáscara al cowpea, o procesarlo por medios húmedos como se indicó, el contenido de estos compuestos disminuye significativamente, como también ocurre en el fríjol común. En base a esto se desarrollaron 3 productos: una mezcla 70/30 de fríjol común y cowpea sin cáscara, una mezcla de fríjol común 70 con 30 de cowpea con cáscara, la mezcla anterior frita y enlatada y esta misma pero como harina precocida.

### 3. Mezcla de fríjol (70%) *Phaseolus vulgaris* y (30%) cowpea sin cáscara.

Los resultados de la evaluación sensorial (Tabla 6) (Figura 2) demostraron en el caso de la prueba triangular que la mayoría de los panelistas (16 de 18) identificaron la mezcla de frijol (*Phaseolus vulgaris* + cowpea sin cáscara), sin embargo a pesar de que la mezcla no logra el sabor del fríjol *Phaseolus vulgaris*, los comentarios de los panelistas sugieren que el sabor de la mezcla era mas intenso pero que no era desagradable. Dentro del grupo de 16 personas que identificaron la mezcla de fríjol, 4 personas comentaron un desagrado hacia el sabor de la mezcla de fríjol. Estas 4 personas eran estudiantes que probablemente no tienen dentro de sus hábitos alimenticios el consumo diario de fríjol y por lo tanto son más discriminativos hacia el sabor del fríjol. El fríjol, es un producto arraigado culturalmente, es decir cualquier familia aunque no consuma fríjol diariamente lo acompaña de manera eventual en algún tiempo de comida. Por lo tanto el desarrollo de un producto de fríjol debe buscar la aceptación sensorial de cualquier clase económica social de la población.

FIGURA 2

Perfil descriptivo del frijol negro a base de una proporción 70:30 (P.Vulgaris: Cowpea descascarado)



Se llevo a cabo un perfil descriptivo de la mezcla de frijol (Figura 2). En el perfil se evaluó el color, la textura, el punto de sal y el sabor de la mezcla de fríjol. Estas características se evaluaron en una escala de 10 puntos, en donde “0” representa los valores ideales de la mezcla, es decir, color negro propio de un fríjol, textura suave agradable, sal en el punto exacto y sabor agradable de la mezcla y 10 representa lo opuesto.

El perfil descriptivo demostró que la característica menos favorecida fue el color, el cual tuvo un valor promedio de 6.12, es decir el color tuvo una tendencia mas a grisáceo que a un color negro propio de un fríjol. La textura tuvo un valor promedio de 5.02, en donde se comentó que la textura se siente muy seca. Los valores que tuvieron valores cercanos a los ideales fueron la sal y el sabor.

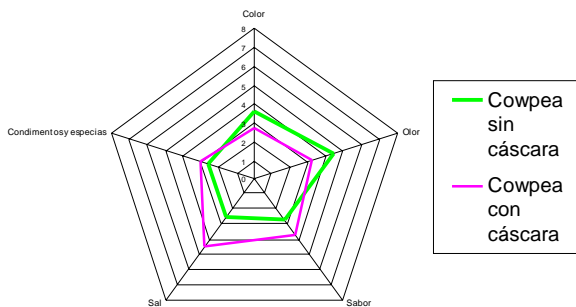
Desde el punto de vista nutricional el descascarado disminuye el contenido de fibra del fríjol, lo cual como es sabido, un alto contenido de fibra en la dieta favorece el funcionamiento del colon y en el caso de las personas diabéticas el contenido de fibra favorece la liberación lenta de los azúcares del fríjol por lo cual el fríjol es un alimento recomendado para las personas diabéticas ya que ayuda a mantener los niveles de azúcar bajos en la sangre. Desde el punto de vista sensorial el descascarado del cowpea disminuye el color de la mezcla de fríjol, lo cual en un alimento como el fríjol, el color negro constituye un factor importante en la aceptabilidad del producto. Por lo tanto se considera importante buscar el tratamiento adecuado que se le debe dar al cowpea para mejorar su sabor sin tener que llevar a cabo el proceso de descascarado.

**3.1 Mezcla de fríjol común 70% con 30% de cowpea con cáscara.** Los resultados de la prueba triangular (Tabla 6) demostraron que el proceso de remojo y cocción en agua hirviendo durante 30 minutos mejora significativamente el sabor de la mezcla de fríjol ya que 5 de 11 panelistas

identificaron la mezcla de frijol, y a pesar de que el sabor de la mezcla sigue teniendo ciertas diferencias en el sabor propio del frijol, el proceso que se le dio al frijol cowpea previo a la cocción y el aumento en la adición de aceite durante el volteado del frijol fueron factores que ayudaron a mejorar el sabor de la mezcla de frijol.

Se llevó a cabo un perfil descriptivo de dos mezclas de frijol (70:30) a base de cowpea entero y cowpea descascarado, Figura 3. Este perfil descriptivo se llevó a cabo con el objetivo de comparar las características sensoriales de éstas mezclas de frijol. En el perfil descriptivo se evaluaron características de la mezcla de frijol como: color, olor, sabor, sal, condimentos y especias. El perfil descriptivo demostró que a pesar que la mezcla de frijol a base de cowpea descascarado tuvo valores más cercanos a los valores ideales respecto al sabor propio de un frijol, sus valores no fueron significativamente diferentes a los de la mezcla de frijol a base de cowpea entero. Los resultados del perfil descriptivo comprobaron que el descascarado del cowpea no mejora significativamente el sabor de la mezcla de frijol y por lo tanto la preparación de la mezcla a base de cowpea entero debe mejorarse aumentando la concentración de sal. Así mismo, se considera importante aumentar la cantidad de agua durante la molienda del frijol para obtener un frijol más suave y con mejor textura después de llevar a cabo el proceso de volteo del frijol.

#### Perfil descriptivo de dos mezclas de frijol



**3.2 Preparación de una mezcla de *P. vulgaris*/cowpea (70/30) frito y enlatado.** En base a los resultados obtenidos de las evaluaciones anteriores, se llevaron a cabo ciertos cambios en la preparación del frijol. Para el procesamiento del cowpea el tratamiento de remojo y cocción en agua hirviendo durante 30 minutos se mantuvo igual. Los cambios se llevaron a cabo en la molienda y en la preparación de la fritura del frijol.

Durante la molienda se utilizó el agua de cocción del frijol *Phaseolus vulgaris* y se aumentó el porcentaje de esta en la mezcla. Se utilizó el agua de cocción del *Phaseolus vulgaris* para disminuir el sabor característico a tierra del frijol cowpea.

En la preparación de la fritura del frijol se aumentó el contenido de sal y especias y se agregó un resaltador del sabor de frijol. El tiempo de fritura del frijol fue de aproximadamente 10 minutos, sin embargo, debido al contenido alto de humedad en el frijol no se logró la consistencia del frijol volteado enlatado que se vende comercialmente.

El proceso de enlatado involucró el paso de las latas por un túnel de vapor para eliminar el aire y aumentar la temperatura de calentamiento en el interior de la lata. Se midió la temperatura en el interior de la lata en la salida del túnel de vapor, siendo importante que las latas inicien el proceso de esterilización comercial con una temperatura alta para que la diferencia de temperatura entre el interior de la lata y el autoclave sea pequeña y de esta forma la lata puede alcanzar la temperatura del autoclave en menos tiempo y el proceso resulta más efectivo.

#### REFERENCIAS

1. Bressani R, Valiente AJ and Tejada C. All vegetable protein mixtures for human feeding. VI The growth promoting value of combinations of lime-treated corn and cooked black beans. *J Food Sci.* 1962;27:394
2. Bressani R. Legumes in human diets and how they might be improved. In: *Nutritional improvement of food legumes by breeding.* P. 15-42 Ed. M. Milner John Wiley & Sons, N.Y. 1975.
3. Bressani, R. Nutritive value of cowpea In: *Cowpea Research, Production and Utilization.* p. 353 – 359 Ed. S.R. Singh & K.O. Rochie 1985. John Wiley & Sons Ltd. 1985.
4. Instituto Nacional de Estadística. II Encuesta Nacional Agropecuaria. Guatemala.2006.
5. INCAP. Evaluación nutricional de la población de Centro América y Panamá. Guatemala, El Salvador, Honduras, Nicaragua, Costa Rica y Panamá. INCAP, Guatemala, 1969.
6. Flores M, Bressani R y Elías LG. Factores y tácticas que influyen en los hábitos alimentarios del consumidor. En: *El potencial del frijol y de otras leguminosas de grano comestibles en América Latina.* 26 Febrero – 01 de Marzo, 1973. Pag. 49-64. Centro Internacional de Agricultura Tropical, CIAT, Cali, Colombia. 1973.
7. Bressani R, Elías LG, Huerdo MT & Braham JE. Estudios sobre la producción de harinas precocidas de frijol y coupi solos y combinados mediante cocción-deshidratación. *Arch Latinoamer Nutr.* 1977; 27:247-260.
8. Elías LG, Bates RP and Bressani R. Mezclas vegetales para consumo humano. Desarrollo de la mezcla vegetal INCAP 17 a base de semillas leguminosas. *Arch Latinoamer Nutr.* 1969;19: 109-127.
9. Elías LG, Bressani R y Flores M. Los problemas y los potenciales en el almacenamiento y procesamiento de las leguminosas de grano comestibles en América Latina. En: *El potencial del frijol y de otras leguminosas de grano comestibles en América Latina.* 26 Febrero – 01 de Marzo, 1973. P. 32 – 48. Centro Internacional de Agricultura Tropical, CIAT, Cali, Colombia.1973.

10. Elías LG, Colindres R and Bressani R. The nutritive value of eight varieties of cowpea (*Vigna sinensis*). J Food Sci. 1964;29:118-122.
11. Carnovale E., Lugaro E and Marconi E. Protein quality and antinutritional factors in wild and cultivated species of *Vigna spp.* Plant Foods for Human Nutrition, 1991; 41: 11-20.
12. Bressani R, Elías LG and Navarrete DA. Nutritive value of Central America beans (IV). The essential amino acid content of samples of black beans, red beans, white beans and cowpeas of Guatemala. J Food Sci. 1961;26: 525-38.
13. Bressani R, Elías LG y Molina MR. Estudios sobre la digestibilidad de la proteína de varias especies de leguminosas. Arch Latinoamer Nutr. 1977; 27: 215-231.
14. Mc Watters RH. Functionality of cowpea meal and flours in selected foods. In: Cowpea Research Production and Utilization. Eds. S.R. Singh and K.O. Rockie 1985;361-366. John Wiley & Sons Ltd.
15. AOAC. Official Methods of Analysis 14<sup>th</sup>. Ed. Association of Official Analytical Chemist, Inc. LIII North 19th. St. Suite 210 Arlington, Virginia 22209 USA.1984.
16. Macz-Pop GA, JC Rivas-Gonzalo, JJ Perez-Alonso, AM Gonzalez-Paramos. Natural occurrence of free anthocyanin aglycones in beans (*Phaseolus vulgaris L*) Food Chem. 2006;94:448-458.
17. Salinas-Moreno YL, Rojas-Herrera E, Sosa-Montes y P. Pérez-Herrera. Composición de antocianinas en variedades de frijol negro (*Phaseolus vulgaris, L*) cultivados en México. Agrociencia 2005;39:385-394.
18. Wittig de Penna E. Evaluación Sensorial. Una metodología actual para tecnología de alimentos. Facultad de Ciencias Básicas y Farmacéuticas. Universidad de Chile, Santiago, Chile. Inscripción No. 52676, Talleres Gráficos USACH.
19. Larmond E. Laboratory methods for sensory evaluation of foods. Food Research Institute Research Branch. Canada Department of Agriculture Publication 1637. 1977.
20. United Nations University. Nutritional evaluation of protein foods. Eds. P.L. Pellett & V.R. Young. The United Nations University World Hunger Programmer Food & Nut. Bull Sup. 4, 1980.

Recibido: 27-07-2007

Aceptado: 13-02-2008

## Determinação de folatos em espinafre – avaliação da influência do tipo de cultivo, época de colheita e cozimento

*Juliana Azevedo Lima-Pallone, Rodrigo Ramos Catharino, Helena Teixeira Godoy*

Centro de Ciências Exatas, Ambientais e de Tecnologias, Faculdade de Química, Pontifícia Universidade Católica de Campinas.  
Brasil, UNICAMP, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Departamento de Ciência de Alimentos, Campinas, SP, Brasil

**RESUMO.** O objetivo desse trabalho foi avaliar o teor das diferentes formas da vitamina, em espinafres produzidos por diferentes tipos de cultivo (orgânico e tradicional), distintas épocas de colheita e após cozimento em água. Para tanto utilizou-se a técnica de cromatografia líquida de alta eficiência. Espinafres cultivados de forma tradicional e orgânica não apresentaram diferença significativa nos teores de folatos, assim como também não se observou diferença significativa entre valores obtidos em diferentes períodos do ano. Os níveis de folatos medidos como 5-metilTHF e 5-formilTHF, variaram de 226 a 527 µg/100g e 4.6 to 10 µg/100g, respectivamente. O cozimento em água resultou em perdas de aproximadamente 74% para o 5-metilTHF e 56% para o 5-formilTHF. Com base na determinação da concentração de folatos na água de cozimento, pode-se afirmar que as perdas se deram, principalmente, devido ao processo de lixiviação. **Palavras-chave:** Folatos, espinafre, tipo de cultivo, cozimento, época de colheita, métodos analíticos.

**SUMMARY. Folate determination in spinach. Influence of cultivation, harvest and cooking methods.** The aim of this work was to determine vitamin contents in spinach produced by different cultivation type (organic and traditional), harvesting period and after cooking in water. The determination was carried out by High Performance Liquid Chromatography. There was no significant difference in folate contents between spinach cultivated by traditional and organic method and there was also no significant difference between the values obtained at different periods of the year. Folate levels determined as 5-methylTHF and 5-formylTHF varied from 226 to 527 µg/100g and 4.6 to 10 µg/100g, respectively. Cooking in water resulted in approximately 74% of losses of 5-methylTHF and 56% of 5-formylTHF. The mainly losses occurred by leaching.

**Key words:** Folates, spinach, type of cultivation, cooking, harvesting period, analytical methods.

### INTRODUÇÃO

Os folatos são compostos pertencentes ao grupo das vitaminas hidrossolúveis do complexo B. São atualmente considerados nutricionalmente essenciais por serem precursores de uma grande variedade de derivados que atuam como coenzimas nas reações de transferência de carbono. Cada uma das diferentes formas de folatos que são sintetizadas a partir de reações de metilação e replicação celular no organismo humano, desempenha um papel específico no metabolismo intracelular (1). Essa vitamina está presente em várias fontes incluindo vegetais verdes escuros, leveduras, fígados, grãos, produtos à base de leite fermentado entre outros, sendo o 5-metiltetraidrofolato (5-metilTHF) o congêneres majoritário (2,3).

As deficiências nutricionais estão se tornando uma das maiores causas de preocupação em relação ao bem estar da população mundial. No caso particular da deficiência de folatos, um dos maiores problemas que acometem o organismo humano são os defeitos causados na síntese de ácidos nucleicos (1). Dentre os principais problemas causados pela deficiência de folatos estão as malformações congênitas, que têm desencadeado campanhas de incentivo ao seu consumo em vários países, além de problemas cardíacos, associados ao

acúmulo de homocisteína no sangue, doenças degenerativas, incluindo mal de Alzheimer, por dificultar a síntese de mielina e anemia megaloblástica (2-4).

Em se tratando do teor de folatos, observa-se uma grande variação entre os valores apontados para um mesmo alimento. Particularmente para o espinafre, considerado uma das maiores fontes dessa vitamina, os dados apresentados na literatura variam de 95,5 a 1540µg/100g, conforme apresentado no Quadro 1. Esse fato pode ser explicado como resultado de variações edafoclimáticas, já que a síntese de folatos em vegetais é dependente de fatores como incidência de luz e presença de minerais no solo (9), da variedade de espécies, além da própria metodologia empregada na sua determinação.

Nos últimos anos tem crescido a oferta de alimentos cultivados de formas alternativas, como a agricultura orgânica (17). Entretanto, há pouquíssimos dados sobre a influência do tipo de cultivo nos níveis de nutrientes. Em relação aos folatos, não há nenhuma avaliação a respeito de possíveis alterações decorrentes da aplicação de diferentes técnicas de cultivo. Os folatos apesar de estarem naturalmente presentes em muitos alimentos são sensíveis a parâmetros como temperatura, oxigênio e luz, entre outros. Leichter et al. (18) investigaram o efeito do cozimento no conteúdo de folatos em vegetais e observaram que a água de cozimento, em geral,

apresentava maior quantidade de folatos do que o próprio vegetal cozido. Chen et al. (15) constataram perdas em torno de 33%, também devido a lixiviação.

### QUADRO 1

Teor de folatos totais para espinafre em diversos estudos

Folatos totais ( $\mu\text{g}/100\text{g}$ )	Referências
$302 \pm 17$	(2)
$261 \pm 92$	(5)
95,5	(6)
100	(7)
193	(8)
364	(9)
224	(10)
1540	(11)
150	(12)
251	(13)
300	(14)
284	(15)
198	(16)

Dessa forma, os objetivos desse trabalho foram o estabelecimento do teor de folatos em espinafres cultivados em sistema tradicional e orgânico, verificação da influência das diferentes épocas de colheita no teor da vitamina e avaliação da estabilidade dos folatos após o cozimento do vegetal em água.

## MATERIAL E MÉTODO

### Produtos avaliados

#### Influência do tipo de cultivo

Foram adquiridos cinco diferentes lotes de espinafre (*Spinacea oleracea*) cultivados de forma tradicional e de forma orgânica (certificado por IBD), comercializados na cidade de Campinas –SP, Brasil. Os lotes foram diferenciados pela data de colheita, sendo cada lote representado por um maço, que foi finamente picado e homogeneizado. Apenas as folhas foram utilizadas. Todas as determinações foram feitas em triplicatas, imediatamente após a aquisição do material.

#### Influência da época de colheita

Foram adquiridos cinco diferentes lotes de espinafre, procedentes da cidade de Campinas–SP, Brasil, no período de setembro a novembro de 2002 e outros cinco diferentes lotes, produzidos nos meses de maio a julho de 2003. Os lotes mais uma vez foram diferenciados pela data de colheita, sendo cada um, representado por um maço de espinafres. As folhas foram

retiradas, picadas e homogeneizadas antes da retirada da amostra para análise. As determinações foram realizadas em triplicatas.

#### Influência do cozimento em água

Cinco diferentes lotes do vegetal foram adquiridos em mercados da cidade de Campinas-SP, Brasil, com datas de colheita diferentes. Cada lote foi composto por um maço de espinafres. As folhas foram separadas, picadas. Dividiu-se o lote em duas porções, uma para a determinação do material cru e outra no cozido.

Para os ensaios de cozimento, pesou-se 100,0 g de espinafre, adicionou-se 1,0 L de água e cozinhou-se em fogo médio por cinco minutos após ebulição. Ao final do cozimento, imediatamente as folhas foram escorridas. Tanto as folhas, como a água de cozimento, foram imediatamente esfriadas até a temperatura ambiente, para posterior análise. O processo de cozimento e as determinações foram realizados em triplicatas, para cada lote. O cálculo da porcentagem de perda foi feito através da diferença, em base seca, do conteúdo de folatos no material cru e cozido.

#### Determinação de umidade

Utilizou-se o método por secagem em estufa (Nova Ética, 400/3ND) a temperatura de 105°C até peso constante (aproximadamente 3h). As determinações foram feitas em triplicatas.

#### Determinação de folatos

Para a análise dos folatos em espinafre utilizou-se a metodologia desenvolvida por Catharino et al. (19), adaptada à matriz.

Para a extração tomou-se 10,0 g de espinafre, após homogeneização total da amostra. Os folatos foram extraídos com 50,0 mL de tampão fosfato, composto por  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  (0,25mol/L)/ $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (0,37mol/L), em homogeneizador tipo Turatec (5 minutos, 27000 rpm).

A coluna Microsorb-MV, ODS-2, 5 $\mu\text{m}$ , 250X4,6mm d.i. (Rainin Instrument Company) foi utilizada para o processo cromatográfico, protegida por uma coluna de guarda Bondesil C<sub>18</sub>, 5 $\mu\text{m}$ , 10X4,6mm d.i (Varian). Os folatos foram separados em sistema de eluição por gradiente, iniciando com 100% de solução aquosa de ácido acético (2%), a pH 2,8, chegando em 25 minutos a 76% de solução de ácido acético e 24% de acetonitrila, mantendo-se essa proporção até 30 minutos, com fluxo de 0,5 mL/min. As condições iniciais foram retomadas e a coluna re-equilibrada durante 15 minutos, antes da próxima injeção. A detecção foi feita em detector de fluorescência e arranjo de diodos (DAD). Para THF, 5-metilTHF, 5-formilTHF utilizou-se o comprimento de onda de leitura ( $\lambda$ ) a  $\lambda$ excitação de 290 nm e  $\lambda$ emissão de 360nm. Para o 10-formilAF utilizou-se o mesmo  $\lambda$ excitação e o  $\lambda$ emissão de 445nm. Já para o 10-

metilAF utilizou-se o  $\lambda$  de 290nm, em DAD. A identificação das diferentes formas da vitamina foi feita por comparação dos tempos de retenção, obtidos com padrões analisados nas mesmas condições, co-cromatografia e pela comparação dos espectros de absorção e fluorescência, obtidos.

### Reagentes

Os padrões de tetraidrofolato (THF), 5-metil-5,6,7,8-tetraidrofolato de cálcio (5-metilTHF), 10-metil-ácido-fólico (10-metilAF), 5-formil-5,6,7,8-tetraidrofolato de cálcio (5-formilTHF), 10-formil-ácido-fólico (10-formilAF) foram adquiridos do Laboratório Dr. Schircks (Jona, Suíça). A acetonitrila grau cromatográfico, o ácido acético e o hidróxido de potássio, grau analítico foram adquiridos da Merck, Brasil. O ácido tricloroacético, fosfato de potássio monobásico anidro e fosfato de sódio dibásico anidro grau analítico, foram adquiridos da Synth, Brasil. A água utilizada no preparo das amostras e das fases móveis, foi purificada no sistema Milli-Q (Millipore). As fases móveis foram filtradas em filtros Millipore (HAWP e FHLP 04700 Millipore), com poros de 0,45 $\mu$ m de diâmetro.

### Equipamento

Utilizou-se um cromatógrafo a líquido Agilent Technologies série 1100, com injetor automático com capacidade de 1 a 100 $\mu$ L, degaseificador, bomba quaternária, equipado com detector de arranjo de diodos (DAD – UV-visível) e de fluorescência, dispostos em sequência. O sistema foi controlado pelo software HP-Chemstation, que permitiu o melhor tratamento dos dados.

### Análise Estatística

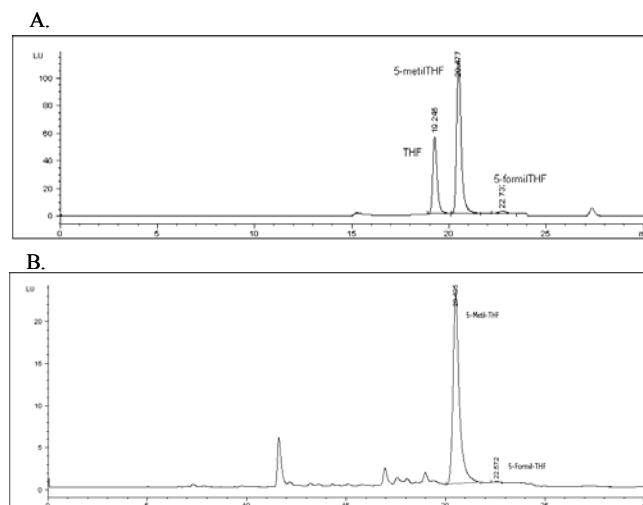
Utilizou-se o programa GraphPad Prism (versão 2.01) para análise de variância.

## RESULTADOS

Duas formas da vitamina foram detectadas e identificadas, sendo o tempo de retenção para 5-metilTHF e para 5-formilTHF de aproximadamente 20,5 e 22,6 minutos, respectivamente, conforme apresentado na Figura 1, onde é possível observar-se o perfil cromatográfico do extrato de espinafre e dos padrões de folatos. O teor de folatos totais encontrado nas amostras avaliadas no trabalho variou de 300 a 610  $\mu$ g/100g, aproximadamente, enquanto Iwatani et al. (3) encontram 302  $\pm$  17 g/100g para espinafres comercializados em Sydney, Austrália. De acordo com Pandrangi e Laborde (20) amostras de espinafres cultivados na Pensilvânia, USA apresentaram teor de folatos totais variando de 84 a 225  $\mu$ g/100g (média de 160  $\pm$  42  $\mu$ g/100g).

FIGURA 1

Perfil cromatográfico dos padrões de folatos (A) e do extrato de espinafre (B). Coluna Microsorb-MV, ODS-2, 5 $\mu$ m, 250X4,6mm. Fase móvel: 100% de solução aquosa de ácido acético (2%) no início da corrida, chegando em 25 minutos a 76% de solução de ácido acético e 24% de acetonitrila. Fluxo de 0,5mL/min. Detecção por fluorescência ( $\lambda_{exc}$ . 290nm e  $\lambda_{emis}$ .360nm)



### Influência do tipo de cultivo

Os dados referentes ao teor de 5-metilTHF e 5-formilTHF se encontram na Tabela 1. O 5-metilTHF foi a forma predominante de folato encontrada, tanto no espinafre cultivado de forma tradicional, como no orgânico, representando, em média, 99% do teor de folatos totais. Observa-se que para os diferentes lotes de espinafre cultivados de forma tradicional o teor de 5-metilTHF variou de 386,0 a 550,4  $\mu$ g/100g, já para 5-formilTHF os valores ficaram entre 4,0 e 6,3  $\mu$ g/100g. No caso dos lotes de espinafre orgânico, os valores para essas mesmas formas da vitamina oscilaram entre 295,3 e 599,9  $\mu$ g/100g e 5,0 a 7,7  $\mu$ g/100g, respectivamente. Observou-se diferença significativa ( $p < 0,05$ ) no teor de folatos entre os lotes, porém, entre os valores médios obtidos, para os dois tipos de cultivo, não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ).

### Influência da época de plantio

Os resultados mostraram que o teor de 5-metilTHF variou de 225,8 a 527,3  $\mu$ g/100g no período de setembro a novembro e de 386,0 a 550,4  $\mu$ g/100g no período de maio a julho, enquanto os teores de 5-formil-THF ficaram entre 4,6 e 7,8  $\mu$ g/100g e 4,0 e 6,3  $\mu$ g/100g, nos mesmos períodos avaliados. Os valores estão apresentados na Tabela 2. A análise estatística dos dados mostrou não haver diferença significativa, entre os valores obtidos nas distintas épocas do ano avaliadas ( $p > 0,05$ ), entretanto, entre lotes foi verificada diferença significativa.

**TABELA 1**  
Teor de folatos em espinafres cultivados de forma tradicional e orgânica

Cultivo/ Lote	Teor de 5-metilTHF ( $\mu\text{g}/100\text{g}$ )		Teor de 5-formilTHF ( $\mu\text{g}/100\text{g}$ )		
	M $\pm$ DP	%CV	M $\pm$ DP	%CV	
Tradicional	1	550,4 $\pm$ 4,5 a	0,8	6,3 $\pm$ 0,6 a	9,5
	2	511,5 $\pm$ 8,6 b	1,7	6,1 $\pm$ 0,5 a	8,2
	3	386,0 $\pm$ 7,3 c	1,9	4,3 $\pm$ 0,3 b	7,0
	4	520,3 $\pm$ 5,6 a	1,1	4,0 $\pm$ 0,5 b	12,5
	5	397,8 $\pm$ 6,9 c	1,7	5,8 $\pm$ 0,4 a	6,9
Média dos lotes	473,2 $\pm$ 75,7	15,9	5,3 $\pm$ 1,1	20,7	
Orgânico	1	599,9 $\pm$ 4,5 a	0,8	7,7 $\pm$ 0,5 a	6,5
	2	295,3 $\pm$ 2,9 c	1,0	6,9 $\pm$ 0,5 a	7,3
	3	558,9 $\pm$ 6,9 b	1,2	7,2 $\pm$ 0,4 a	5,6
	4	302,7 $\pm$ 7,4 c	2,4	5,9 $\pm$ 0,2 b	3,4
	5	590,4 $\pm$ 4,1 a	0,7	5,0 $\pm$ 0,2 b	4,0
Média dos lotes	469,4 $\pm$ 156,3	33,3	6,5 $\pm$ 1,1	16,9	

\* Valores são médias de determinações em duplicatas.

\*\* M  $\pm$  DP %CV : média dos valores estimativa do desvio padrão % coeficiente de variação.

\*\*\*letras iguais na mesma coluna, para o mesmo tipo de cultivo, significa não haver diferença significativa ( $p>0,05$ ).

**TABELA 2**  
Teor de folatos em espinafres cultivados em diferentes épocas do ano

Lote/Período	Setembro – Novembro 2002				
	5-metilTHF ( $\mu\text{g}/100\text{g}$ )		5-formilTHF ( $\mu\text{g}/100\text{g}$ )		
	M $\pm$ DP	%CV	M $\pm$ DP	%CV	
1	527,3	9,5 b	1,8	7,8 $\pm$ 0,5 a	6,4
2	485,6 $\pm$ 2,9 a	0,6	7,5 $\pm$ 0,3 a	4,0	
3	274,4 $\pm$ 3,8 a	1,4	5,1 $\pm$ 0,4 a	7,8	
4	225,8 $\pm$ 2,3 a	1,0	4,6 $\pm$ 0,2 a	4,4	
5	255,8 $\pm$ 10,9 a	4,3	9,9 $\pm$ 0,5 a	5,1	
Média dos lotes	353,8 $\pm$ 141,2	40,0	7,0 $\pm$ 2,2	31,4	
Lote/Período	Maio – Junho 2003				
	5-metilTHF ( $\mu\text{g}/100\text{g}$ )		5-formilTHF ( $\mu\text{g}/100\text{g}$ )		
	M $\pm$ DP	%CV	M $\pm$ DP	%CV	
1	550,4 $\pm$ 4,5 b	0,8	6,3 $\pm$ 0,6 a	9,5	
2	511,5 $\pm$ 8,6 a	1,7	6,1 $\pm$ 0,5 a	8,2	
3	386,0 $\pm$ 7,3 a	1,9	4,3 $\pm$ 0,3 a	7,0	
4	520,3 $\pm$ 5,6 a	1,1	4,0 $\pm$ 0,5 b	12,5	
5	397,8 $\pm$ 6,9 a	1,7	5,8 $\pm$ 0,4 a	6,9	
Média dos lotes	473,2 $\pm$ 75,7	15,9	5,3 $\pm$ 1,1	20,7	

\* Valores são médias de determinações em triplicatas.

\*\* M  $\pm$  DP %CV : média dos valores estimativa do desvio padrão % coeficiente de variação.

\*\*\*letras iguais na mesma coluna, para o mesmo tipo de cultivo, significa não haver diferença significativa ( $p>0,05$ ).

### Influência do cozimento em água

Na Tabela 3 encontram-se os valores obtidos para a determinação da umidade das amostras in natura e cozidas. Para os lotes de espinafre in natura a umidade média foi 94,4%, enquanto que para o vegetal cozido o valor obtido foi 92,9%. Esses valores indicam que após o cozimento, aproximadamente 1,5 % da água contida no vegetal foi perdida. Iwatani et al. (3) encontraram 92 % de umidade em espinafres frescos, disponíveis comercialmente em Sydney, Austrália.

**TABELA 3**  
Determinação da umidade das amostras de espinafres in natura e cozidas

Espinafre/lotos	Umidade (%)		
	M $\pm$ DP	%CV	
In natura	1	93,8 $\pm$ 0,3	0,3
	2	94,2 $\pm$ 0,1	0,1
	3	94,7 $\pm$ 0,4	0,4
	4	94,7 $\pm$ 0,1	0,1
	5	94,6 $\pm$ 0,1	0,1
Média dos lotes	94,4 $\pm$ 0,4	0,4	
Cozido	1	92,2 $\pm$ 0,3	0,3
	2	92,5 $\pm$ 0,5	0,5
	3	93,2 $\pm$ 0,4	0,4
	4	93,3 $\pm$ 0,3	0,3
	5	93,2 $\pm$ 0,4	0,4
Média dos lotes	92,9 $\pm$ 0,5	0,5	

M  $\pm$  DP – média dos valores e estimativa do desvio padrão de determinações em triplicatas.

%CV – coeficiente de variação.

A Tabela 4 apresenta o teor de folatos nos lotes de espinafres crus e cozidos, bem como a concentração das diferentes formas da vitamina na água de cozimento e as perdas totais ocorridas devido à degradação térmica da vitamina e ao processo de lixiviação. Para essas amostras 5-metilTHF e 5-formilTHF foram detectados e constatou-se que aproximadamente 58% do teor de 5-metilTHF e 39% de 5-formilTHF migraram para a água de cocção, sendo parte (aproximadamente 20 %) dessas duas formas da vitamina, provavelmente, degradada durante esse processamento caseiro. Essa constatação corrobora com as afirmações de Leichter et al. (18) e Chen et al. (15) que, também, verificaram que a maior perda da vitamina se deve a lixiviação. A degradação térmica da vitamina também foi verificada. De acordo com Scott et al. (4) as reações de oxidação que levam à destruição do 5-metilTHF levam à formação de 4a-hidroxi-5-metildihidrofolato, que não apresenta atividade vitamínica.

TABELA 4  
Teor de folatos em espinafres in natura, cozido e na água de cozimento e porcentagem de perda total da vitamina

Espinafre/ Folatos	In natura		Cozido		Água de Cozimento		% Perda Total	
	M ± DP	%CV	M ± DP	%CV	M ± DP	%CV	M ± DP	%CV
5-MetilTHF								
(µg/100g)								
1	527,3 ± 9,5	1,8	117,4 ± 4,1	3,5	300,3 ± 4,9	1,6	77,7	
2	485,6 ± 12,9	2,7	90,5 ± 11,5	12,0	320,6 ± 2,9	0,9	81,4	
3	274,4 ± 3,8	1,4	83,5 ± 2,4	2,9	138,2 ± 2,7	1,8	71,9	
4	225,8 ± 7,3	3,2	77,0 ± 4,8	6,2	106,8 ± 5,9	4,7	65,8	
5	255,8 ± 10,9	4,3	64,5 ± 3,7	5,7	130,1 ± 2,2	1,7	74,8	
Média dos valores	353,8 ± 141,2	40,0	87,6 ± 20,1	22,9	205,2 ± 96,7	7,1	74,3 ± 5,9	8,0
5- FormilTHF								
(µg/100g)								
1	7,8 ± 0,5	6,4	3,2 ± 0,2	6,3	3,5 ± 0,5	14,3	59,0	
2	7,5 ± 0,3	4,0	3,6 ± 0,3	8,3	2,4 ± 0,1	4,2	52,0	
3	5,1 ± 0,4	7,8	2,2 ± 0,1	4,6	1,7 ± 0,1	5,9	56,9	
4	4,6 ± 0,2	4,4	2,1 ± 0,1	4,8	1,5 ± 0,2	13,3	54,4	
5	9,9 ± 0,5	5,1	4,0 ± 0,4	10,0	4,0 ± 0,1	2,2	59,6	
Média dos valores	7,0 ± 2,2	31,4	3,0 ± 0,8	26,7	2,7 ± 1,3	48,1	56,4 ± 3,2	5,7

\* Valores são médias de determinações em triplicatas.

\*\* M ± DP %CV: média dos valores ± estimativa do desvio padrão % coeficiente de variação.

Observou-se que os valores para 5-metilTHF variaram 225,8 a 527,3 µg/100g e de 52 a 117,4 µg/100g, para espinafres crus e cozidos, respectivamente. Já para o 5-formilTHF o teor ficou entre e 4,6 a 9,9 µg/100g e 2,1 a 3,6 µg/100g, para as mesmas amostras. Constatou-se também uma grande variação entre os lotes, tanto para 5-metilTHF quanto para 5-formilTHF, que provavelmente se devem às diferentes condições edafoclimáticas ocorridas durante o plantio até a colheita, já que a síntese de folatos pelos vegetais é bastante influenciada por fatores como luz e composição do solo.

Quanto à porcentagem de perda total das diferentes formas da vitamina, verificou-se aproximadamente 75% de 5-metilTHF e 57% de 5-formil THF, o que confirma as observações de alguns pesquisadores (1) de que o 5-formilTHF é mais estável do que o 5-metilTHF. Os valores obtidos neste trabalho foram superiores aos declarados por Chen et al. (18) que observaram perda de 33% no teor de folatos totais, utilizando um método microbiológico, após o cozimento de espinafre em água, entretanto estão próximos aos observados por De Souza e Eitenmiller (13) que apontaram perdas de 83 % de perda da vitamina e Puupponen-Pimia et al (21) que observaram 70 % . McKillop et al (22) verificaram que 51% dos folatos foram perdidos após cozimento de espinafre em água.

Esses dados são muito importantes e indicam a instabilidade e o teor dessa vitamina quando o espinafre é consumido após cozimento em água, sua forma mais comum de ingestão, além de colaborar com pesquisas realizadas na área de saúde, que relacionam o consumo de determinados

tipos de alimentos pela população, com a diminuição ou aumento de incidência de doenças carenciais ou crônicas.

No Brasil são consumidos menos de 0,4 g de espinafre/pessoa/dia (0,156 kg/pessoa/ano) de acordo com dados do IBGE (23). Aproximadamente 360 µg de folatos são fornecidos após o consumo de 100 g espinafre cru e 90 µg da vitamina são encontrados no vegetal cozido. A biodisponibilidade dos folatos é, em média, 50% (4). Considerando-se que a recomendação para ingestão diária de folatos é de 200 µg/dia para adultos e de 400 µg/dia para gestantes, o consumo de 0,4 g de espinafre/dia pode contribuir para a ingestão de menos de 1% das necessidades de gestantes e adultos.

## CONCLUSÕES

A determinação da influência do cozimento no teor da vitamina, mostrou que para as duas formas de folatos avaliadas, a maior parte é perdida por lixiviação. Para evitar esse tipo de perda da vitamina, a água de cozimento também deveria ser ingerida, já que dada a sua consistência o espinafre raramente é consumido sem cozimento.

Em relação à influência do tipo e época de cultivo, considerando-se não haver diferença significativa entre os lotes avaliados nos dois ensaios, pode-se concluir que essas duas variáveis não parecem causar diferença no teor de folatos, de acordo com os dados observados para as amostras avaliadas neste trabalho.

As amostras de espinafre avaliadas no trabalho apresentaram alta quantidade de folatos, entretanto, a hortaliça

é pouco consumida pela população brasileira. O incremento no consumo de espinafre, juntamente com a água utilizada na cocção, poderia ser de grande importância para que a ingestão diária recomendada da vitamina seja atingida.

### REFERÊNCIAS

- Hawkes JG, Villota TH. Folates in foods: Reactivity, Stability during processing and nutritional implications. *Critical Rev Food Sci Nutr* 1989; 28 (6): 439-539.
- Gregory III JF. Chemical and nutritional aspects of folate research: analytical procedures, methods of folate synthesis, stability, and bioavailability of dietary folates. *Adv Food Nutr Res* 1989; 3: 1-101.
- Iwatani Y, Arcot J, Shrestha AK. Determination of folate contents in some Australian vegetables. *J Food Comp Anal* 2003, 16: 37-48.
- Scott J, Rébeille F, Fletcher J. Review: Folic acid and folates: the feasibility for nutritional enhancement in plant foods. *J Sci Food Agric* 2000, 80: 795-824.
- Yon M, Hyun TH. Folate content of foods commonly consumed in Korea measured after trienzyme extraction. *Nutr Res* 2003, 23:735-746.
- Freisleben A, Schieberle P, Rychlik M. Comparison of folate quantification in foods by HPLC-fluorescence detection to that by stable isotope dilution assays using HPLC-tandem mass spectrometry. *Anal Biochem* 2003, 31: 247-255.
- Konings EJM, Roomans HHS, Dorant E, Goldbohm RA. Folate intake of the Dutch population according to newly established liquid chromatography data for foods. *Am J Clin Nutr* 2001, 73:765-776.
- Shrestha AK, Arcot J, Paterson J. Folate assay of foods by traditional and trienzyme treatments using cryoprotected *Lactobacillus casei*. *Food Chem* 2000, 71:545-552.
- Lin BF, Lin RF. Effect of chinese stir-fry cooking on folate content of vegetables. *J Chinese Agric Chem Soc*, 1999, 37:443-454.
- Aiso K, Tamura T. Trienzyme treatment for food folate analysis. Optimal pH and incubation for  $\alpha$ -amilase and protease treatments. *J Nutr Sci Vitam* 1998, 44: 361-370.
- Clifford AJ, Heid MK, Peerson JM, Bills ND. Bioavailability of food folates and evaluation of food matrix effects with a rat bioassay. *J Nutr* 1991, 121(4): 445-453.
- McCane RA, Widdowson EM. *The Composition of foods*. 5<sup>th</sup> Edn. Cambridge: The Royal Society of Chemistry and Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, 1991, 462p.
- DeSouza SC, Eitenmiller RR. Effects of processing and storage on the folate content of spinach and broccoli. *J Food Sci* 1986, 51:526-628.
- Kirsch AJ, Chen TS. Comparison of conjugase treatment procedures in the microbiological assay of food folacin. *J Food Sci* 1984, 49:94-98.
- Chen TS, Song YO, Kirsh AJ. Effects of blanching, freezing and storage on folacin content of spinach. *Nutr Rep Intern* 1983, 28: 317-324.
- Mullin WJ, Wood DF, Howsam SG. Some factors affecting content of spinach, swiss chard, broccoli and brussels sprouts. *Nutr Rep Int* 1982, 26(1):7-11.
- Saba A, Messina F. Attitudes towards organic foods and risk/benefit perception associated with pesticides. *Food Quality Pref*, 2003, 14: 637-645
- Leichter J, Switzer VP, Landymore AF. Effect of cooking on folate content of vegetables. *Nutr Rep Int* 1978, 18(4): 475-482.
- Catharino RR, Godoy HT, Lima-Pallone JA. Metodologia analítica para determinação de folatos e ácido fólico em alimentos. *Quim Nova*, 2006, 29(5): 972-976.
- Pandurangi S, Laborde LF. Retention of folate, carotenoids, and other quality characteristics in commercially packaged fresh spinach. *Food Chem Toxicol*, 2004, 69(9): 702-707.
- Puupponem-Pimia R, Hakkinen ST, Aarni M, Suortti T, Lampi A-M, Euroala M, Piironen V, Nuutila, AM, Oksman-Caldentey K-M. Blanching and long-term freezing affect various bioactive compounds of vegetables in different ways. *J Sci Food Agric*, 2003, 83: 1389-1402.
- 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. *British J. Nutr*, 2002, 88: 681-688.
- IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pesquisa de Orçamentos Familiares 2002-3: aquisição alimentar domiciliar per capita. Disponível em <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/condicaodevida/pof/2002aquisicao/default.shtm>.

Recibido: 15-08-2007

Aceptado: 22-11-2007

## Fatty acid concentration, proximate composition, and mineral composition in fishbone flour of Nile Tilapia

Maria Eugênia Petenuci, Flávia Braidoti Stevanato, Jeane Eliete Laguila Visentainer, Makoto Matsushita, Edivaldo Egea Garcia, Nilson Evelázio de Souza, Jesui Vergilio Visentainer

Departamento de Química,, Departamento de Análises Clínicas, Universidade Estadual de Maringá,  
Maringá – PR, Brasil

**SUMMARY.** Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fishbone is a fish part with unknown composition. After elaboration of flour fishbone of tilapia it was analysed. The results in 100g of flour were: moisture (14.2%), protein (40.8%), total lipids (25.3%), and ash (18.3%), and mineral (in 100g) was 2715.9mg (calcium), 1.3mg (iron), and 1132.7mg (phosphorus). A total of 22 fatty acids were detected in fishbone flour total lipids (TL), being the major ones in (g) of total lipids: 16:0 (208.5mg); 18:1n-9 (344.3mg); and 18:2n-6 (109.6mg). The concentration of linolenic acid - LNA (18:3n-3); eicopentaenoic acid - EPA (20:5n-3), and docosahexaenoic acid - DHA (22:6n-3) were (29.9mg), (3.3mg), and (12.9mg), respectively. The content to saturated (SFA) were (296.2mg), monounsaturated (MUFA) 415.0mg, and polyunsaturated (PUFA) 175.6mg. The ratio PUFA:MUFA:SFA was 1:2.4:1.7, and the ratio omega-6/omega-3 fatty acids were 2.8. The last is within the recommended values. The results show low concentrations of omega-3 fatty acids in flour. The value caloric and calcium, iron, phosphorus, and protein content the fishbone flour of tilapia may results a valuable alternative food in the human diet.

**Keywords:** Fatty acid, proximate analysis, minerals, fish, flour, Nile tilapia, fishbone.

**RESUMEN. Concentración de ácidos grasos, composición centesimal y composición mineral en harina del espinazo de Tilapia del Nilo.** El espinazo de tilapia (*Oreochromis niloticus*) es una parte del pescado con composición desconocida. Se obtuvo y analizó la harina de espinazo de tilapia. Los resultados hallados cada 100 gramos de producto fueron: humedad (14,2%), proteína (40,8%), lípidos totales (25,3g), cenizas (18,3g) y calorías (391Kcal). El contenido de minerales en 100g fue calcio (2715,9mg), hierro (1,3mg), y fósforo (1132,7mg). Un total de 22 ácidos grasos fueron encontrados en los lípidos totales de la harina de espinazo, siendo los mayoritarios por g de lípidos totales:16:0 (208,5mg); 18:1n-9 (344,3mg) y 18:2n-6 (109,6mg). La concentración de ácido linolênico - LNA (18:3n-3); ácido eicosapentaenóico - EPA (20:5n-3), y ácido docosahexaenóico - DHA (22:6n-3) fueron (29.9mg), (3.3mg), y (12.9mg), respectivamente. El contenido de los saturados (SFA) fue 296,2mg, monoinsaturados (MUFA) 415,0 mg y polinsaturados (PUFA) 175,6mg. La razón PUFA:MUFA:SFA fue 1:2,4:1,7 y la razón ácidos grasos omega-6/ácidos grasos omega-3 fue 2,8. Esta última está de acuerdo con los valores recomendados. Los resultados mostraron bajas concentraciones de ácidos grasos omega 3 en la harina; sin embargo, por su aporte calórico, y por su contenido de calcio, hierro, fósforo y proteínas la harina del espinazo de tilapia puede resultar una alternativa interesante para la dieta humana.

**Palabras claves:** Ácidos grasos, composición centesimal, minerales, pescado, harina, tilapia del Nilo, espinazo.

### INTRODUCTION

Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), a species of African origin, is one of the most farmed fish in the tropical and subtropical regions all over the world (1,2), and favored by its rusticity, fast growth, adaptation to diverse environments, good consumer acceptance and high quality, low fat content, and absence of intramuscular “y” shaped bones (3). However, many times the processing of the fillet of this species produces parts that are not used, mainly the head, skin, viscera, and bones. Fishbone is constituted by the remaining meat after the removal of the fillet, bones, and cartilages. Many times it is used as a foodstuff in the form of soups, broths, etc.

We point out that there are no reports in either the national

or international literature on the fatty acid and mineral composition of Nile tilapia fishbone flour, which prompted us to evaluate its nutritional value.

### MATERIAL AND METHODS

#### Sampling

Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) were raised in culturing tank (240m<sup>2</sup>) and given commercial feed (Acqua fish 28, Supra®, São Leopoldo - Brasil) ad libitum during 6 months. The head, fillets, skin, viscera, and fishbone of 40 Nile tilapia were removed. The fishbone were washed with deionized water and steam-cooked for 25min. After cooking, fishbones were ground in an endless-screw grinder and dried on a tray

in oven for 4h at 180°C. Next, the flour was sieved in a 14mesh stainless steel sieve. The product obtained, referred to as Nile tilapia fishbone flour, was packed in polyethylene bags, wrapped in aluminum foil after removal of air, and stored in refrigerator at 4°C for later analysis.

### Analytical methods

Moisture, protein, and ash contents were determined by AOAC (4). Total lipids – TL (fat) were extracted according to Bligh & Dyer (5). The results were expressed in wet-basis.

Energetic values (kcal/g) were calculated by multiplying the protein content by 4 and the total lipids content by 9 and adding up the results. The data were multiplied by 4.184 to convert them to kJ/g.

Calcium and iron were determined by Flame Atomic Absorption Spectrometry (FAAS) at 422.7nm and 248.0nm, respectively, using spectral band width of 0.2nm (6). Phosphorus was determined by UV-VIS spectrophotometry (7) at 715nm using the ammonium phosphomolybdate method.

Transesterification of total lipids were prepared by Joseph & Ackman (8). The methyl esters were separated by gas chromatography in Varian model 3380 equipped with flame ionization and cyanopropyl capillary column (100m x 0.25µm i.d., CP-7420 Varian, EUA). Hydrogen (carrier gas) flow was 1.0mL/min with nitrogen flow of 30mL/min and hydrogen and synthetic air flows of 30 and 300mL/min for the flame detector. The injected volume was 1.0µL in split mode 1:80. Injector and detector temperatures were 220 and 240°C. The column temperature was raised from 165°C to 235°C in 18 min at 4°C/min, and kept at this temperature for 24.5min.

For the identification of fatty acids, fatty acid retention times were compared to those of standard methyl esters (Sigma, St. Louis, MO) and equivalent chain-length values (ECL) were used (9, 10). Retention times and peak area percentages were determined by Star software (Varian). The quantification (in mg fatty acid/g of total lipids) was made against methyl ester of tricosanoic acid from Sigma (USA) as an internal standard (23:0) as described by Joseph & Ackman (8). Theoretical FID (flame ionization detector) correction factor (11, 12) values were used to obtain concentration values. Fatty acid content is reported in mg g<sup>-1</sup> of total lipids by using the following formula:

$$\text{Fatty acid (mg g}^{-1}\text{ TL)} = \frac{(A_x) (W_{IS}) (CF_x)}{(A_{IS}) (W_x) (1.04)} \times 1000$$

Where TL = total lipids,  $A_x$  is the peak area (fatty acids),  $A_{IS}$  the peak area of internal standard (IS) methyl ester of tricosanoic acid (23:0),  $W_{IS}$  is the weight (mg) of IS added to the sample (in mg),  $W_x$  is the sample weight (in mg),  $CF_x$  is the theoretical correction factor, and 1.04 = conversion factor

necessary to express results as mg of fatty acids rather than as methyl esters.

### Statistical analysis

The results were submitted with Statistica software version 5.0 (13).

## RESULTS

Results of proximate composition and fatty acids in commercial feed used in the present experiment are presented in Table 1. The results reveal a high concentration of linoleic acid- LA (223.4mg g<sup>-1</sup> TL) and low concentration of linolenic acid - LNA (18.9 mg g<sup>-1</sup> TL). LNA was the only one in the n-3 PUFA series present in commercial feed.

TABLE 1  
Proximate composition (g/100g) and fatty acid (in mg/g of total lipids) of commercial feeds

Moisture 12.7 ± 0.8 Fatty acids	Composition (mean ± SD) <sup>a</sup>		Total lipid 10.2 ± 0.9 M ± SD <sup>a</sup>
	Protein <sup>b</sup> M ± das	Ash Fatty acids	
	42.0 ± 1.3	12.9 ± 0.7	
12:0	5.0 ± 0.9	18:2n-6 (LA)	223.4 ± 29.6
14:0	12.3 ± 1.4	18:3n-6	2.4 ± 0.3
14:1n-9	4.5 ± 1.0	18:3n-3 (LNA)	18.9 ± 1.6
15:0	2.6 ± 0.4	20:0	2.6 ± 0.3
16:0	211.6 ± 18.7	20:1n-9	2.1 ± 0.3
16:1n-7	36.8 ± 3.4	22	1.9 ± 0.3
17:0	3.5 ± 0.4	22:1n-11	1.8 ± 0.4
17:1n-9	6.3 ± 0.7	22:1n-9	1.5 ± 0.2
18:0	87.6 ± 89	24:0	1.6 ± 0.4
18:1n-9	289.0 ± 20.5		

<sup>a</sup>Mean and standard deviation of three samples in triplicate.

<sup>b</sup>Based on nitrogen content (N x 6.25).

The average weight of ground fishbone Nile tilapia (40 fishbones) was approximately 4.4 kg, while the weight obtained after cooking, grinding, drying, and sieving was approximately 1.8 kg, 41% of the initial weight.

The proximate composition of Nile tilapia fishbone flour, including moisture, protein, total lipids (fat), ash, energetic values, calcium (Ca), iron (Fe), and phosphorus (P) contents are presented in Table 2.

Moisture was reduced from 65g/100g (*in natura* fishbone) to 14.2g/100g (fishbone flour). Nile tilapia fishbone flour protein (40.8g/100g), total lipids (25.3g/100g), and ash (18.3g/100g) contents were much higher than those values found by Visentainer et al. (14) protein (14.1g/100g), total lipids (8.4g/100g), and ash (4.8g/100g) for Nile tilapia heads.

The calcium and phosphorus contents were 2715.9 and 1132.7mg/100g Nile tilapia fishbone flour as shown in Table 2.

TABLE 2  
Proximate composition (g/100g), energy (Kj or Kcal/100 g), and minerals (mg/100g)  
of Nile tilapia fishbone flour

	Moisture	Proximate Composition <sup>a</sup>			Energy	Minerals <sup>c</sup>		
		Protein <sup>b</sup>	Total lipids	Ash		Ca	Fe	P
Fishbone flour	14.2 ± 0.1	40.8 ± 0.2	25.3±0.2	18.3±0.1	1636/391	2715..9± 0.3	1.3±0.3	1132.7±0.1

<sup>a</sup> Mean and standard deviation of three samples in triplicate.

<sup>b</sup> Based on nitrogen content (N x 6.25).

<sup>c</sup> Minerals: Ca (calcium); Fe (iron), and P (phosphorus).

The fatty acid composition of Nile tilapia fishbone flour is given in Table 3. It was detected 22 fatty acids in the total lipids (TL), being palmitic acid, 16:0 (208.5mg/g of TL); oleic acid, 18:1n-9 (344.3mg/g of TL); and linoleic acid, 18:2n-6 (109.6mg/g of TL) the major ones. They also predominated in the lipid fraction of Nile tilapia heads as reported by Visentainer et al. (14) and in tilapia viscera according by Souza et al. (15). The concentration of LNA, EPA, and DHA were (29.9mg/g of TL), (3.3mg/g of TL), and (12.9mg/g of TL), respectively.

TABLE 3  
Fatty acids concentration ( mg/g of total lipids)  
of Nile tilapia fishbone flour

Fatty acid	M ± SD <sup>a</sup>	Fatty acids	M ± SD <sup>a</sup>
12:0	3.5 ± 0.9	21:0	1.5 ± 0.2
14:0	23.8 ± 3.5	20:2n-6	7.2 ± 0.8
14:1n-9	1.5 ± 0.7	20:3n-6	6.0 ± 0.5
15:0	1.8 ± 0.6	22:1n-9	13.5 ± 1.2
16:0	208.5 ± 19.2	20:4n-6	0.5 ± 0.1
16:1n-9	46.7 ± 4.1	20:5n-3	3.3 ± 0.3
17:0	2.7 ± 0.4	24:1n-9	6.6 ± 0.7
17:1n-9	2.4 ± 0.2	22:6n-3	12.9 ± 1.3
18:0	54.4 ± 0.6	Saturated (SFA)	296.2 ± 19.5
18:1n-9	344.3 ± 25.4	Monounsaturated (MUFA)	415.0 ± 24.9
18:2n-6	109.6 ± 11.6	Polyunsaturated (PUFA)	175.6 ± 10.5
18:3n-6	6.26 ± 0.9	n-6 (omega-6)	129.6 ± 7.8
18:3n-3	29.9 ± 2.8	n-3 (omega-3)	46.1 ± 2.6
20:1n-9	21.7 ± 2.5	n-6/n-3	2.8 ± 0.2

<sup>a</sup>Mean and standard deviation of three samples in triplicate

As shown in Table 3, Nile tilapia fishbone flour was high in MUFA (415.0mg/g of TL) and SFA (296.2mg/g of TL) and low PUFA (175.6mg/g of TL) content.

## DISCUSSION

The alpha-linolenic acid (LNA) was the only one in the n-3 PUFA series present in commercial feed (Table 1).

The high proximate composition protein, total lipids and ash) values of this experiment were due mainly to the water loss; the nutrients were concentrated during flour production. The energetic value of Nile tilapia fishbone flour (1636kJ/100g or 391kcal/100g) shows that its addition to soups, broths, and other dishes will raise their energetic value significantly (Table 2).

Calcium and phosphorus values were higher than those found in residues of tilapia silage of 1580.0mg and 120.0mg/100g contents, respectively (16), and much higher than flour of shrimp head with contents of 449.0mg and 40mg/100 respectively (17). The calcium and phosphorus content were expressive em relation of others foods. The iron content of 1.3 mg of Nile tilapia fishbone flour was higher than that found in Nile tilapia heads (0.42mg/100g) by Adeyeye et al. (18). However, it was lower than values found for beef (4.0mg/100g) (16). This is probably due to the fact that iron is an hemoglobin component.

The n-3 PUFA are considered nutritionally important, although they did not present high contents in Nile tilapia fishbone flour, the values obtained were close to those found in fillets of many fresh water fish (19,20). The low concentrations of n-3 PUFA in flour were due to the low concentration of LNA (a omega-3 series precursor) and of n-3 PUFA in commercial feed.

Recently, nutritionists have strengthened the advantages of a diet rich in MUFA and PUFA, such as the Mediterranean diet, in the prevention of atherosclerosis. Thus, as a way of reducing the risk of cardiovascular disease, it has been recommended to follow a diet with a PUFA, MUFA, and SFA ratio of 1:1.5:1 (21). The ratio for Nile tilapia fishbone flour is 1:2.4:1.7, which differs from the recommended value. The ratio n-6/n-3 (2.8) is close to those of many farmed fresh water fish (19) and within the recommended values range from 2:1 to 3:1 (22).

## CONCLUSIONS

The present results indicate that Nile tilapia fishbone flour is a caloric food and that it presents iron and high contents of protein, calcium and phosphorus. The low concentration of omega-3 fatty acids in the commercial feed given to tilapias resulted in low n-3 PUFA concentrations of total lipids in fishbone flour. Nevertheless, Nile tilapia fishbone flour is an interesting alternative food in human diet.

## ACKNOWLEDGEMENTS

The authors are grateful to CNPq And Fundação Araucária for the financial support.

## REFERENCES

- Siddiqui AQ, Al-Harbi AH. Evaluation of three species of tilapia, red tilapia and a hybrid tilapia as culture species in Saudi Arabia. *Aquac. Fishery Manag.* 1995; 20: 49-58.
- El-Sayed A.FM. Total replacement of fishmeal with animal protein sources in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L), feeds. *Aquac. Res.* 1998; 29: 275-280.
- Hilsdorf AWS. Genética e cultivo de tilápias vermelhas - uma revisão. *B. Inst. Pesca* 1995; 22: 73-84.
- AOAC. Official Methods of Analysis. 15.ed. Arlington, VA. : Association of Official Analytical Chemists, 1990.
- Bligh EG, Dyer, WJ. A rapid method of lipid extraction and purification. *Can. J. Bioch. and Physiol* 1959; 37: 911-917.
- Zhou HY, Cheng EYH, Chank KM. Metal composition in sediments and tilapia collected from Island water of Hong Kong. *Water Research* 1998; 32: 331-334.
- Silva DJ. (1981). Análise de alimentos. Métodos químicos e biológicos – Imprensa Universitária, Universidade Federal de Viçosa, p. 166.
- Joseph JD, Ackman RG. Capillary column gas chromatography method for analysis of encapsulated fish oil and fish oil ethyl esters: collaborative study. *J. AOAC Int.* 1992; 75: 488-506.
- Thompson RH. A simplified fatty acid analyses in multicomponent foods with a standard set of isothermal GLC conditions couplet with ECL determinations. *J. Chromatogr. Sci.* 1996; 34: 495-504.
- Stránský K, Jursík T, Vitek A. Standard equivalent chain length values of monoenic and polyenic (methylene interrupted) fatty acids. *J. High Resol. Chromatogr.* 1997; 20: 143-158.
- Bannon CD, Craske JD, Hilliker AE. Analysis of fatty acid methyl ester with high accuracy and reliability. Validation of theoretical relative response factors of unsaturated ester in the flame ionization detector. *JAOCs* 1986; 63: 105-110.
- Visentainer JV, Franco MRB. Ácidos Graxos em óleos e gorduras: Identificação e Quantificação, 1 Ed. Varela, São Paulo, Brasil 2006; 120 pp.
- Statística. *Statística 5.0 software.* Stasoft Tucks, 2005
- Visentainer JV, Gomes STM, Hayashi C, Santos Junior OO, Silva ABM, Justi KC, Souza NE, Matsushita M. Efeito do fornecimento de ração suplementada com óleo de linhaça sobre a composição físico-química e de ácidos graxos em cabeças de tilápias do nilo (*Oreochromis niloticus*). *Ciênc. Tec. Alim.* 2003; 23: 47-78.
- Souza NE, Matsushita M, Franco MRB, Prado IN, Visentainer JV. Composição Química, Perfil de Ácidos Graxos e Quantificação dos Ácidos alfa-linolênico, Eicosapentaenóico e Docosahexaenóico em Visceras de Tilápias (*Oreochromis Niloticus*). *Acta Sci. Technol.* 2005; 27: 73-76.
- Maia Junior WM. Adequação do processamento de silagens de resíduos de tilápia (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1757): caracterização química e funcional da fração seca em pó e lipídios. 1998. 105 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 1998.
- Guilherme RF, Cavalheiro, JMO, de Souza PAS. Caracterização química e perfil aminoácídico da farinha de silagem de cabeça de camarão. *Ciênc. Agrotec.* 2007; 31 (3): 793-797.
- Adeyeye EI, Akinyugha NJ, Fesobi ME, Tenabe VO. Determination of some metals in *Clarias gariepinus* (Cuvier and Valenciennes), *Cyprinus carpio* (L.) and *Oreochromis niloticus* (L.) fishes in a polyculture fresh water pond and their environments. *Aquac.* 1996; 147: 205-214.
- Moreira AB, Visentainer JV, Souza NE, Matsushita M. Fatty acids profile and cholesterol contents of three Brazilian *brycon* freshwater fishes. *J. Food Comp. Anal.* 2001; 14: 565-74.
- Visentainer JV, Matsushita M, Souza NE, Hayashi C, Franco MRB. Influence of diets enriched with flaxseed oil on the linoleic, eicosapentanoic and docosahexanoic fatty acid in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Food Chem.* 2005; 91: 557-560.
- Caldironi HA, Manes ME. Proximate composition, fatty acids and cholesterol content of meat cuts from tegu lizard *Tupinambis merianae*. *J. Food Comp. Anal.* 2006; 19: 711-714.
- Simopoulos AP, Leaf A, Salem N. Essentiality and recommended dietary intakes for omega-6 and omega-3 fatty acids. *Ann. Nutr. Metab.* 1999; 43: 127-130.

Recibido: 19-10-2007

Aceptado: 04-12-2007

## Caracterización nutricional de pescados de producción y consumo regional en Bucaramanga, Colombia

Aide Perea, Elieth Gómez, Yamile Mayorga, Cora Yohanna Triana

Escuela de Química-CICTA, Escuela de Nutrición y Dietética. Universidad Industrial de Santander  
Bucaramanga Colombia

**RESUMEN.** El objetivo del presente trabajo fue, contribuir a la caracterización nutricional, especialmente el perfil de ácidos grasos, en pescados de agua dulce de mayor producción regional y consumo. Se estudiaron cinco especies: trucha arco iris (*Salmo gairdnerii*), tilapia roja (*Oreochromis sp*), cachama blanca (*Piaractus brachypomus*), bocachico (*Prochilodus reticulatus magdalenae*) y bagre (*Pseudoplatystoma faciatum*). Paralelamente se analizó el salmón coho (*Oncorhynchus kisutch*) pescado de origen marino, por ser la especie importada de mayor consumo y fuente de ácidos grasos n-3. En cada muestra se realizó el análisis químico proximal (humedad, cenizas, proteína total y grasa total), la determinación de algunos minerales: hierro, calcio, y fósforo y el perfil de ácidos grasos. Los resultados mostraron que los pescados de agua dulce, contienen proteína total entre 16.4 y 22.1 g/100g de filete, y una cantidad de grasa total que oscila entre 0.4 g/100g de filete del bagre y 8.1 g/100g de filete de la trucha. La trucha mostró ser la fuente mas importante de ácidos grasos n-3 (EPA y DHA) y de fósforo, con rangos de 260 a 520 mg/100g de filete y 217-331 mg/100g de filete respectivamente. Para el hierro los valores mas altos se observaron en el bagre y en la trucha, 3-6 mg/100g de filete. El salmón pescado de referencia mostró la mayor cantidad de ácidos grasos n-3, 1130-2270 mg/100g de filete. El contenido de calcio es bajo en todas las especies analizadas. Los resultados obtenidos permitieron determinar el perfil de ácidos grasos de los pescados de producción y consumo regional, evidenciando que la trucha es la especie con mayor cantidad de ácidos grasos n-3 especialmente DHA y de los minerales el fósforo. Las otras especies bagre, bocachico, tilapia y cachama, no son fuente de ácidos grasos n-3, pero son fuente importante de proteína.

**Palabras clave:** Acidos grasos, pescados de agua dulce, ácidos grasos n-3, salmón.

**SUMMARY. Nutritional characterization of produced fish for human consumption in Bucaramanga, Colombia.** This research involves the nutritional characterization of the most commonly cultivated fish in the region. The species under study were: Rainbow trout (*Salmo gairdnerii*), tilapia roja (*Oreochromis sp*), cachama blanca (*Piaractus brachypomus*), bocachico (*Prochilodus reticulatus magdalenae*) and catfish (*Pseudoplatystoma faciatum*). A sea fish, coho Salmon (*Oncorhynchus kisutch*), was used as reference because it is the imported species most used in the region, and it also contains n-3 fatty acids. For each fish sample moisture, ash, protein content, total fat, minerals (iron, calcium and phosphorous) and a fatty acid profile were determined. Results show a total protein content in between 16.4 and 22.6 g/100g fillet for fresh water fish. Total fat amounts for trout are the highest (8.1g/100g fillet), while catfish has the lowest fat content (0.4 g/100g fillet). Trout was found to be the most important source of n-3 fatty acids (EPA+DHA) and phosphorous, with values ranging from 0.25% to 0.52%, and 250 to 346 mg/100 g fillet, respectively. Catfish and trout exhibited the highest iron content, with values ranging from 3 to 6mg/100g fillet. Salmon, on the other hand, showed a high n-3 fatty acid content of 1.16% to 2.25%, when compared to fresh water fish. Calcium content is low in all species under scrutiny. Fresh water fish, other than trout, show no significant amount of n-3 fatty acids. However, all of them are a good source of protein. The obtained results allowed to determine the profile of oily acids of produced fish for human consumption in the region, demonstrating that the trout is the species with major quantity of oily acids n-3 specially DHA and of the minerals the phosphorus. Other species (kinds) catfish, bocachico, tilapia and cachama, are not a source of oily acids n-3, but they are an important source of protein.

**Key words:** Fatty acids, freshwater fish, fish nutrients, fatty acids w-3, salmon.

### INTRODUCCION

En Colombia las enfermedades cardiovasculares (ECV) se han convertido en la primera causa de mortalidad, superando a la muerte violenta y al cáncer (1). Entre los factores que explican la epidemia de ECV se han propuesto como fundamentales los cambios en los hábitos nutricionales que han llevado a un aumento en el consumo de alimentos de preparación rápida, desplazando aquellos que contienen nutrientes cardioprotectores en los que se incluyen: frutas, vegetales y pescado (2). El pescado tiene un efecto cardiovas-

cular protector asociado con un menor riesgo de mortalidad por enfermedad coronaria (3,4) en razón a que es la principal fuente natural de ácidos grasos n-3.

Existen evidencias sólidas que señalan que los ácidos grasos n-3, no solamente son nutrientes esenciales, sino que también modulan favorablemente varias enfermedades entre las que se incluyen: la aterosclerosis, enfermedad cardiaca coronaria, enfermedad inflamatoria, desórdenes autoinmunes, desarrollo del feto en mujeres embarazadas, desarrollo cognitivo y de aprendizaje en los niños, diabetes tipo 1 y 2,

síndrome metabólico, obesidad, desarrollo de la demencia y otros desórdenes (5,6). Estos datos y el extenso conocimiento del efecto del consumo de pescado en el organismo, muestran la necesidad de promover el incremento en la ingesta de este alimento, en todas las poblaciones, especialmente en aquellas de mayor riesgo de morbilidad no solo por ECV, sino por otros procesos patológicos (7,8).

En este contexto es necesario partir del conocimiento de las características nutricionales, especialmente del contenido de ácidos grasos n-3, en las especies producidas y consumidas en la región: trucha arco iris (*Salmo gairdnerii*), tilapia roja (*Oreochromis sp*), cachama blanca (*Piaractus brachypomus*), bocachico (*Prochilodus reticulatus magdalenae*) y bagre (*Pseudoplatystoma faciatum*), utilizando el salmón coho (*Oncorhynchus kisutch*) como patrón de referencia para los ácidos grasos n-3, por ser la especie conocida a nivel internacional con mayor contenido de estos nutrientes (9,10). En la actualidad no se cuenta en el país con datos disponibles del perfil completo de ácidos grasos y micronutrientes de estas especies, pese al incremento en la producción pesquera a nivel nacional y de la región (11), El objetivo de este estudio fue determinar algunas características nutricionales de las especies mencionadas, con énfasis en el perfil de ácidos grasos.

## MATERIALES Y METODOS

### Muestreo

Las muestras se obtuvieron mediante muestreo aleatorio simple. Para cada una de las especies se realizaron cuatro muestreos (1 mensual) según la disponibilidad, tomando en cada caso 10 kg de pescado, de donde después de un cuarteo se obtuvo 1 kg de muestra para el análisis. El muestreo de las especies de bagre y bocachico provenientes del río Magdalena y del río Sogamoso, se realizó en centros de acopio de la ciudad de Bucaramanga; la trucha, la tilapia y la cachama, en centros de producción de la región: Páramo de Berlín, Lebrija y Piedecuesta respectivamente, zonas aledañas a la ciudad de Bucaramanga. El salmón importado de Chile se adquirió congelado en la empresa Pesquera del Mar, comercializadora de este producto en la región.

### Tratamiento de las muestras

Las muestras de pescado fueron evaluadas “in situ” en cuanto a color y brillo de la piel, color de la parte comestible, firmeza y olor del pescado, para determinar su frescura. Posteriormente fueron evisceradas, lavadas, almacenadas en bolsas plásticas y transportadas manteniendo la cadena de frío. Una vez en el laboratorio, los pescados fueron cortados separando la cabeza, la piel y las espinas, y obteniendo filetes que se homogenizaron y almacenaron a  $-20^{\circ}\text{C}$ , hasta el momento del análisis. El salmón comprado en filetes, fue descongelado y homogenizado previo a su análisis.

### Análisis de las muestras

Análisis químico proximal: Se determinó el contenido de humedad, cenizas, proteínas y grasas, aplicando los métodos A.O.A.C (12): humedad 7.003/84 y 930.15/90 adaptado; grasa total 7.060/84 y 920.39/90 adaptados; cenizas 7.009/84 y 942.05/90 y la proteína total 981.10/95. Para el análisis de minerales se partió de la muestra obtenida del análisis de cenizas. El calcio y el hierro se determinaron por absorción atómica según los métodos analíticos de Standard Methods 3111B. Para el análisis del fósforo se utilizó el método descrito por Bernal (13).

### Análisis de ácidos grasos

De cada especie de pescado se pesó un gramo de muestra ( $1 \pm 0.001\text{g}$ ), y se extrajo la grasa total siguiendo el método de Bligh y Dyer (14). Una vez obtenidos los lípidos totales se saponificaron para la obtención de los ácidos grasos libres, los cuales se esterificaron y mutilaron para obtener metilésteres (FAME) siguiendo la norma ISO 5508 (15). Los FAME obtenidos junto con los patrones fueron analizados por cromatografía de gases, utilizando un cromatógrafo de gases Agilent modelo HP-6890 Series GC System (USA), equipado con un detector FID y un puerto de inyección Split/splitless (relación de split 100:1), una columna capilar de sílice fundida INNOWAX con fase estacionaria de polietilenglicol [30m x 0.32mm (d.i.) x 0.25 $\mu\text{m}$  (f.e.)]. Para la identificación de los ácidos grasos se compararon los tiempos de retención de las muestras con los de un patrón de referencia (FAME Mix: C4-C24 Cat No.18919, Supelco). La cuantificación se realizó por normalización de áreas. Los resultados de los ácidos grasos se expresan como g/100g de filete.

### Análisis estadístico

Para evaluar las diferencias entre las variables medidas en las diversas especies de pescado, se empleó un análisis estadístico no paramétrico para muestras de poblaciones no controladas, basado en la aplicación inicial del test Kruskal-Wallis (test K-W) o “análisis de varianza por rangos” que usa como criterio estadístico el valor de  $\chi^2$  (16). Las hipótesis a analizar fueron: (1) hipótesis nula: el valor de una determinada variable medida, es la misma en las especies de pescados muestreadas; (2) la hipótesis alternativa: el valor de una determinada variable no es la misma en las especies de pescados muestreadas. El rechazo de la hipótesis nula, implica el uso del test de Nemenyi como test *a posteriori* (17), el cual realiza comparaciones múltiples no paramétricas, usando como criterio estadístico el valor  $q_{\text{cal}}$  (valor crítico de distribución calculado del análisis de los datos experimentales) y el valor  $q_{\text{tab}}$  (valor crítico de distribución tabulado). La comparación de estos valores permitió clasificar las especies en dos grupos: las especies que presentaron valores de  $q_{\text{cal}}$  superiores a  $q_{\text{tab}}$  se clasificaron en el grupo (a) y las que presentaron valores de  $q_{\text{cal}}$  inferiores se clasificaron en el grupo

(b). En todos los casos se utilizó el programa estadístico SPSS para Windows versión 10.0.

**RESULTADOS**

En la Tabla 1, se presentan los resultados del análisis químico proximal. Al aplicar el test de Kruskal-Wallis a los datos señalados, se rechazó en todos los casos la hipótesis nula, estableciéndose que todas las especies evaluadas presentan una composición diferente en macronutrientes, en consecuencia, se aplicó la prueba a *posteriori* o test de Nemenyi.

TABLA 1

Contenido de humedad, cenizas, grasa total y proteína total de las especies de pescado de producción y consumo en Bucaramanga-Colombia\* (g/100g)

Especie	Humedad	Proteína total	Cenizas	Grasa total
Salmón	60.0 – 68.6	19.4 – 20.9	1.1 – 1.3	7.4 – 17.0
Trucha	69.8 – 75.9	17.8 – 20.4	1.0 – 1.2	4.1 – 8.1
Tilapia	72.3 – 76.9	18.4 – 20.8	1.1 – 1.5	2.2 – 4.5
Bocachico	75.2 – 78.1	16.4 – 20.4	1.1 – 1.3	1.3 – 5.2
Bagre	74.9 – 77.5	20.3 – 22.1	1.0 – 1.1	0.4 – 1.9
Cachama	74.8 – 79.3	16.7 – 19.3	1.0 – 1.2	1.6 – 6.3

\*Los resultados se expresan en base húmeda.

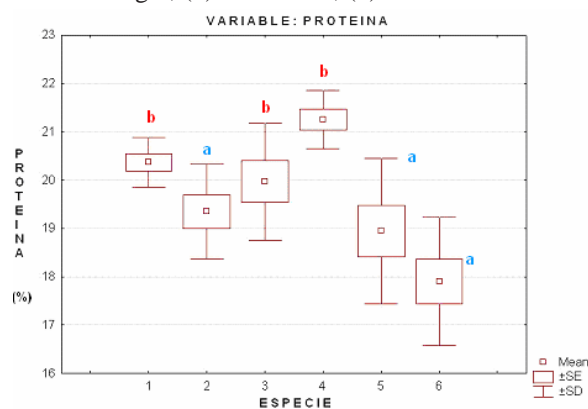
El salmón se clasificó como única especie en el grupo a, con el contenido más bajo de humedad, las otras especies, se ubicaron en el grupo b. Las especies salmón, bocachico, tilapia y cachama poseen un contenido similar de cenizas que permite clasificarlas en el grupo b, mientras que la trucha y el bagre presentaron un contenido de cenizas más bajo y se agruparon en el grupo a. Para la proteína, al grupo a correspondieron: la trucha, el bocachico y la cachama, con valores entre 16.4-20.4% y en el grupo b las especies salmón, tilapia y bagre con valores entre 18.4-22.1% (Figura 1). Con respecto al contenido de grasa, después de aplicar el test de Nemenyi, los grupos estuvieron conformados por: grupo a, bagre, bocachico, cachama y tilapia con valores que oscilan entre 0.4% y 6.3% y grupo b por salmón y trucha con concentraciones de grasa total que oscilan entre 4.1 y 17.0% (Figura 2).

En la Tabla 2, se presenta la composición en ácidos grasos, saturados (AGS), monoinsaturados (AGM) y poliinsaturados (AGP) encontrados en las diferentes especies de pescado. Cabe resaltar que el valor más alto de los AGS correspondió, al ácido palmítico y la especie que reportó mayor porcentaje fue el salmón (1400-3100 mg/100g de filete). Esta especie, también presentó el mayor contenido de ácido oleico (1600-2900 mg/100g de filete), de EPA (400-1000 mg/100g de filete), de DHA (720-1250 mg/100g de filete), de ácido  $\alpha$ -linolénico (10-20 mg/100g de filete) y de los ácidos n-6. De los pescados de producción regional, la trucha, fue la especie con mayor con-

centración de ácidos grasos monoinsaturados y polinsaturados, de estos últimos es importante resaltar el contenido de DHA (240-480 mg/100g de filete) aún cuando su concentración de EPA es mínima (10-20 mg/100g de filete). Las demás especies tilapia, bagre, bocachico y cachama, presentaron niveles muy bajos de AGM y AGP. Otros ácidos grasos que fueron encontrados en las especies analizadas con valores entre 100 y 410 mg/100g de filete incluyen: tridecanoico, cis-10-pentadecenoico, cis-11,14-eicosadienoico, miristoleico, heptadecanoico, cis-8,11,14-eicosatrienoico, pentadecanoico, cis-10-heptadecenoico, henicosoico, araquidico, cis-11-eicosenoico, cis-13,16-docosadienoico,tricosanoico, lignocérico.

FIGURA 1

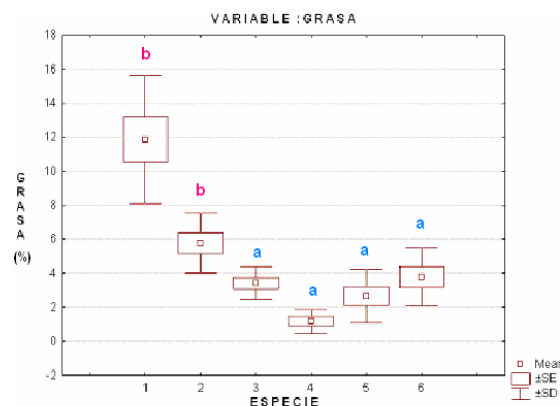
Clasificación de las especies evaluadas por el test de Nemenyi, respecto al contenido de proteína total (g/100g de filete): (1) Salmón, (2) Trucha, (3) Tilapia, (4) Bagre, (5) Bocachico, (6) Cachama



Mean: Media; SE: Error estándar; SD: Desviación estándar.

FIGURA 2

Clasificación de las especies evaluadas por el test de Nemenyi, respecto al contenido de grasa total (g/100g de filete): (1) Salmón, (2) Trucha, (3) Tilapia, (4) Bagre, (5) Bocachico, (6) Cachama



Mean: Media; SE: Error estándar; SD: Desviación estándar

TABLA 2  
Composición en ácidos grasos de las especies de pescado de producción y de consumo en Bucaramanga-Colombia (mg/100g de filete)

Acido graso	Salmon	Trucha	Tilapia	Bagre	Bocachico	Cachama
Mirístico	400-1300	100-300	100-200	0-100	nd**	100-300
Palmitito	1400-3100	900-1800	600-1300	100-600	400-1800	500-1800
Estearico	300-700	200-500	200-300	0-200	100-300	200-600
Oleico	1600-2900	1000-2200	0-100	0-100	0-100	500-1900
$\alpha$ -Linolenico	10-20	10-20	10-20	nd**	10-40	0-2
EPA	400-1000	10-20	0-10	0-10	0-10	0-10
DHA	720-1250	240-480	50-120	10-40	20-60	10-50
Linoleico	700-2200	600-1300	400-700	0-100	0-100	200-800
$\gamma$ -Linolenico	160-330	50-130	20-50	10-80	40-220	10-40

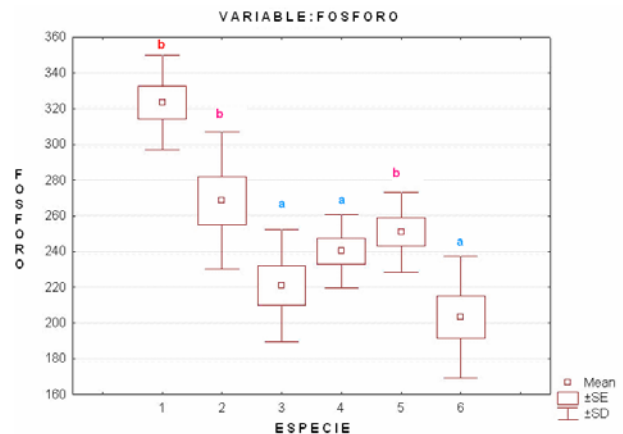
TABLA 3  
Fósforo, hierro y calcio de las especies de pescado de producción y consumo en Bucaramanga-Colombia (mg/100g de filete)

Especie	Fósforo	Calcio	Hierro
Salmón	283 - 361	10 - 24	2 - 6
Trucha	217 - 331	16 - 43	3 - 6
Tilapia	191 - 285	15 - 33	1 - 3
Bagre	215 - 264	13 - 25	3 - 6
Bocachico	224 - 286	17 - 32	3 - 3
Cachama	157 - 248	12 - 23	1 - 2

\* Los resultados se expresan en base húmeda.

El contenido de minerales calcio, hierro y fósforo presente en las especies estudiadas, se relaciona en la Tabla 3. En este caso el análisis estadístico de los datos con el test de K-W mostró, para el calcio valores similares en todas las especies, excepto la trucha que muestra un contenido ligeramente mas alto (16-43 mg/100g de filete). Para el hierro y el fósforo, en cambio, los valores fueron diferentes y por lo tanto, se procedió a aplicar el test de Nemenyi. Para el hierro, el grupo a lo conformaron, la tilapia y la cachama y el grupo b, el bagre, la trucha, el salmón y el bocachico, con mayor contenido de hierro (2-6 mg/100g de filete). En el caso del fósforo, el grupo a, lo integraron el bagre, la cachama y la tilapia, especies que poseen un contenido similar, pero más bajo que el encontrado en el salmón, la trucha y el bocachico, que mostraron valores mas altos y conformaron el grupo b (Figura 3). El salmón es la especie con mayor aporte de fósforo (283-361 mg/100g de filete), y de los pescados regionales la trucha (217-331 mg/100g de filete).

FIGURA 3  
Clasificación de las especies evaluadas por el test de Nemenyi, respecto al contenido de fósforo (mg/100g de filete): (1) Salmón, (2) Trucha, (3) Tilapia, (4) Bagre, (5) Bocachico, (6) Cachama



Mean: Media; SE: Error estándar; SD: Desviación estándar.

## DISCUSION

El análisis químico proximal mostró variabilidad entre las especies. En cuanto al contenido de humedad el salmón, es el pescado con menor cantidad de agua, hecho que repercute en una mayor concentración de nutrientes por porción. De los pescados de producción regional, la trucha presenta esta misma característica. La proteína total aunque presentó menores variaciones entre las especies (Figura 1), mostró valores semejantes a los registrados en diferentes tablas de composición de alimentos (18-20), confirmando que el pescado es fuente importante de proteína, porque cubre con

mas del veinte por ciento (20%) del valor de referencia (21).

La mayor variabilidad en los resultados se observó en el contenido de grasa total (Figura 2) que oscilo entre 0.4%-1.9% (bagre) y 7.4%-17.0% (salmón). Para el bagre los valores fueron mas bajos, que los reportados por Castro-González 2,7% (22), y Poulter y Nicolaides 3.7% (23). En el caso del salmón, los valores obtenidos se corresponden con los encontrados en la literatura: 10.9% por Shills (10), y 15.8% por Valenzuela (9).

La cantidad de grasa total de la trucha obtenida en este estudio (4.1%-8.1%) fue similar a la reportada en estudios de la FAO (4.3%-6.9%) (24), pero difiere de los datos de Izquierdo y colbs, que encontró contenidos de 1.5%. Aunque la trucha es la que presenta el mayor contenido de grasa total en los pescados de producción regional, su valor es inferior al encontrado en el salmón con una relación aproximada de 1:2. El contenido de grasa total de las otras especies, tilapia, cachama y bocahico, concuerda con los obtenidos por Izquierdo y colbs (25).

En cuanto al contenido de ácidos grasos se encuentra que en general todas las especies analizadas presentan un perfil similar de ácidos grasos, pero difieren en su contenido. Es de resaltar que de los AGS, el ácido palmítico es el más abundante. Si bien este AGS tiene un grado de aterogenicidad intermedio, en general su baja concentración en los pescados de producción regional que en promedio fue de 500-1460 mg/100g de filete no es un factor que interfiera en el efecto cardioprotector de los AG n-3 (26).

El valor mas bajo de ácido palmítico se observó en el bagre y osciló entre 100-600 mg/100g de filete. De los AGM, el ácido oleico es el de mayor importancia desde el punto de vista nutricional y tiene un efecto neutro en los procesos aterogénicos (27); en este estudio se encontró en mayor cantidad en el salmón (1600–2900 mg/100g de filete), seguido de la trucha y la cachama.

En el análisis de AG n-3, el salmón es la especie de mayor contenido, dato congruente con lo que ha reportado la bibliografía, evidenciando que es la principal fuente natural de estos ácidos grasos (28). Los valores encontrados en este estudio, son similares a los reportados por Valenzuela (9): EPA 1420 mg/100g de filete y DHA 2030 mg/100g de filete, sin embargo las cifras de la FAO son relativamente más bajas: 270 mg/100g de filete EPA y 630 mg/100g de filete DHA (24). El AG n-3, a-linolénico se encuentra en cantidades muy bajas (2-40 mg/100g de filete) en todas las especies analizadas.

La trucha es el pescado de producción regional que tiene características nutricionales similares a las del salmón (29) y en este estudio mostró el mayor contenido de AG n-3 (260-520 mg/100g de filete), aunque con valores inferiores a los del salmón (1130-2270 mg/100g de filete). Otro AGP de importancia, es el ácido linoléico que se encontró en mayor cantidad en el salmón: 700-2210 mg/100g de filete seguido

de la trucha: 600-1310 mg/100g de filete. En el caso de la tilapia, los resultados obtenidos del análisis de ácidos grasos coinciden con los reportados por Rasoarahona (30). Para la cachama, Izquierdo y colbs (25), reportan valores de EPA y DHA de 440 mg/100g de filete y de 620 mg/100g de filete respectivamente, mientras en este estudio se obtuvieron valores más bajos, 10 mg/100g de filete y 50 mg/100g de filete respectivamente.

Al comparar los datos obtenidos de hierro, fósforo y calcio con otros estudios, llama la atención que en todas las especies analizadas los valores de hierro y fósforo, fueron más altos que los encontrados por Izquierdo y colbs (25), los reportados en la Tabla de Composición de Alimentos del Perú (31) y la de Alimentos Colombianos, del Instituto Colombiano de Bienestar Familiar (ICBF) (20) siendo más relevante en la trucha, el bagre y el bocachico. Para el calcio los valores obtenidos fueron más bajos que los reportados por los autores mencionados previamente.

Las concentraciones de hierro (2-6 mg/100g de filete), encontradas salmón, trucha, bagre y bocachico son superiores a las de la carne de res y otras variedades incluyendo las aves; en consecuencia estas especies pueden ser utilizadas como sustitutos importantes de alimentos cárnicos para mejorar el aporte de hierro de alta biodisponibilidad. En Colombia existe una alta prevalencia de deficiencia en la ingesta de hierro en un grupo de edad altamente vulnerable (14-18 años) tanto en hombres como en mujeres, alcanzando en el grupo de mujeres el 33% (32), y en mujeres en edad fértil el 95% (33). Los pescados de producción regional serían una alternativa, para cubrir la recomendación de este mineral (34).

El salmón es la especie con mayor aporte de fósforo (283-361 mg/100g de filete), por lo tanto, una porción de cien gramos puede cubrir el 40% de la recomendación que corresponde a 700 mg/día para un adulto normal (34, 35). De los pescados de producción regional la trucha por su contenido de fósforo (216-331mg/100g de filete), puede contribuir a satisfacer las necesidades diarias de este mineral.

Aún faltan investigaciones que permitan conocer los aportes de estas especies en cuanto a otros nutrientes que incluyan magnesio, yodo, manganeso y oligoelementos especialmente los inmunomoduladores como el selenio y el zinc y otros componentes como el colesterol y las vitaminas liposolubles. Además se hace necesario evaluar el contenido de mercurio, por el riesgo de toxicidad que representa este mineral para la salud.

## CONCLUSION

Los resultados obtenidos permitieron establecer el perfil de ácidos grasos de los pescados de producción y consumo regional, desconocido en el país para estas especies. Comparada con el salmón, la trucha es la especie que provee

el mayor aporte de ácidos grasos n-3, especialmente DHA y de fósforo. Los valores encontrados sugieren que, una porción de trucha de 250 g/día cubre el requerimiento de n-3 que corresponde a 1,3-1,5 g/día. Las otras especies bagre, bocachico, tilapia y cachama, no son fuente de ácidos grasos n-3, son fuente importante de proteína.

## REFERENCIAS

1. Ministerio de Salud de Colombia. II estudio nacional de factores de riesgo de enfermedades crónicas (ENFREC II). 2002.
2. Lock k, Pomerleau J, Causer L, Altmann DR, McKee M. The global burden of disease attributable to low consumption of fruit and vegetables: implications for the global strategy on diet. *Bull World Health Organ.* 2005; 83(2): 100-108
3. Dallongeville J, Yarnell J, Ducimetiere P, Arveiler D, Ferrieres J. Fish consumption is associated with lower heart rates. *Circulation* 2003; 108: 820 -825.
4. Tziomalos K, Athyros VG, Mikhailidis DP. Fish oils and vascular disease prevention: an update. *Curr Med Chem.* 2007; 14(24): 2622-2628.
5. Harris WS. Are omega-3 fatty acids the most important nutritional modulators of coronary heart disease risk? *Curr Atheroscler Rep.* 2004; 6(6): 447 - 452.
6. Akabas SR, Deckelbaum RJ. n-3 fatty acids: Recommendations for therapeutics and prevention. *Am J Clin Nutr* 2006; 83(6): Supp
7. Carrero JJ, Martín-Bautista E, Baró L, Fonollá J, Jiménez J, Boza JJ, y López-Huertas E. Efectos cardiovasculares de los ácidos grasos omega-3 y alternativas para incrementar su ingesta. *Nutr Hosp.* 2005; XX (1): 63-69
8. Panagiotakos DB, Pitsavos C, Zampelas A, Chrysohoou C. The relationship between fish consumption and the risk of developing acute coronary syndromes among smokers: The CARDIO 2000 case-control study. *Nutr, Metab & Cardio Dis.* 2005; 15: 402-409.
9. Valenzuela A. El salmón: un banquete de salud. *Rev Chil Nutr* 2005; 32(1): 8-17.
10. Shills ME, Olson JA, Shike M, Ross CA. *Nutrición en la salud y la enfermedad.* 9ª edición McGraw Hill Interamericana, México Vol 2, 2002. Apéndice 21
11. Acuerdo de la competitividad de la cadena de la piscicultura en Colombia. Ley 811 de 2003 del Congreso de la República de Colombia consolidación de organizaciones de cadena y la definición de acuerdos sectoriales de competitividad.
12. AOAC International, Official Methods of Analysis of AOAC International, 17th, Gaithersburg MD, USA. Chapter 4-35. 2000
13. Bernal I. Análisis de alimentos. Guadalupe. 2º ed. Colombia 1994; 53 - 58.
14. Bligh E, Dyer W. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can J Biochem Physiol* , 1959; 37(8): 911 - 917.
15. ISO 5508 "Animal and Vegetable Fats and Oils – Analysis by Gas Chromatography of Methyl Ester of Fatty Acids"
16. Kruskal W. and Wallis A. Use of ranks in one-criterion variance analysis. *Journal of the American Statistical Association* 1952; (260): 583–621.
17. Peña Sánchez de Rivera, D. Estadística: Modelos y métodos. Ed. Alianza Editorial, Madrid. 2ª.ed. 1999
18. Schmidt-Hebbel, Pennacchiotti M, LMasson S, MA Mella R, Tabla de Composición Química de Alimentos Chilenos, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile, Santiago 8ª edición 1992.
19. Quintero D, Alzate MC, Moreno S. Tabla de composición de alimentos. Centro de Atención Nutricional, Medellín, Colombia.1990.
20. Instituto Colombiano de Bienestar Familiar (Colombia) Tabla de composición de alimentos colombianos. 2005.
21. ICONTEC. Norma Técnica Colombiana. 512-1 y 512-2, 1997 y Food and Drug Administration (FDA). Focus on food labeling. Washington, DC: Department of Health and Human Services, 1992. 32.
22. Castro-González MI, Ojeda A, Silencio JL, Cassis L, Ledesma H, Pérez-Gil F. Perfil lipídico de 25 pescados marinos mexicanos con especial énfasis en sus ácidos grasos n-3 como componentes nutraceuticos. *Arch Latinoamer Nutr.* 2004; 54(3): 328 – 336.
23. Poulter, N.H. and Nicolaidis, L. Quality changes in Bolivian fresh water species during storage in ice. In Reilly ed. Storage of Tropical fish and Product Development. FAO Fisheries Report. 317(supp) 1985; 11-28.
24. Fats and Oils in Human Nutrition, Report of a Joint Expert Consultation FAO/OMS, FAO Food and Nutrition Paper N° 57, 1994.
25. Izquierdo Córser P, Torres Ferrari G, Barbosa de Martínez Y, Márquez Salas E y Allara Cagnasso M. Análisis proximal, perfil de ácidos grasos, aminoácidos esenciales y contenido de minerales en doce especies de pescado de importancia comercial en Venezuela. *Arch Latinoamer Nutr.* 2000; 50: 187-194.
26. Rasmussen BM, Vessby B, Uusitupa M, Berglund L, Pedersen E, Riccardi G, Rivellese AA, Tapsell L, Hermansen K. Effect of dietary saturated, monounsaturated, and n-3 fatty acids on blood pressure in healthy subjects. *Am J Clin Nutr* 2006; 83: 221-226.
27. Mataix J, Gil A. Los ácidos grasos poliinsaturados w-3 y monoinsaturados tipo oleico y su papel en la salud. *Editorial Médica Panamericana.* Argentina 2004; 13 – 47.
28. Elvevoll EO, Barstad H, Breimo ES, Brox J, Eilertsen KE, Lund T, Olsen JO, Osterud B. Enhanced incorporation of n-3 fatty acids from fish compared with fish oils. *Lipids* 2006; 41(12):1109 -1114.
29. Echeverri D.; Jaramillo, J.; Pineda, H.; Triploidia en trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*): posibilidades en Colombia, *Rev Col Cienc Pc.* 2003; 16(2): 183-187.
30. Rasoarahona, J. E; Gilles- Barnathan, J. P; Gaudoy B and E. Influence of season on the lipid content and fatty acid profiles of three tilapia species (*Oreochromis niloticus*, *O. macrochir* and *Tilapia rendalli*) from Madagascar. *Food Chemistry* 2005; 91(4): 683 -694.
31. Collazos Ch. La Composición de los Alimentos Peruanos, Instituto de Nutrición, Instituto Nacional de Salud, Ministerio de Salud, Lima 5th ed, 1975\* 36.
32. Instituto Colombiano de Bienestar Familiar (ICBF). Encuesta nacional de la situación nutricional en Colombia. Panamericana formas e impresos S.A Bogotá. 2006; 251-260.

33. Herrera E, Gómez E, Méndez A. Determinación de la ingesta de hierro en mujeres en edad fértil de la ciudad de Bucaramanga. Salud UIS 2001; 33(2): 119-125.
34. ICBF, Ministerio de Protección Social. Guías Alimentarias para la población colombiana mayor de 2 años. Bogotá D.C. 2004.
35. Institute of Medicine, food and nutrition board, standing committee on the scientific evaluation of dietary reference intake: Vitamin A, K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molibdenum, Nickel, Silicon, Vanadium and Zinc. Washington DC, National Academics Press, 2001.

Recibido: 22-07-2007

Aceptado: 30-11-2007

## Composición química y capacidad antioxidante en fruta, pulpa y mermelada de guayaba (*Psidium guajava* L.)

Marquina V, Araujo L, Ruíz J, Rodríguez-Malaver A, Vit P.

Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Facultad de Medicina. Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela

**RESUMEN.** La guayaba (*Psidium guajava* L.) es una fruta tropical de gran aceptación en los trópicos, donde se consume fresca y procesada. En este trabajo se comparó la acidez libre, el pH, el contenido de cenizas, nitrógeno y la humedad, junto con el contenido de polifenoles totales y la capacidad antioxidante de la piel, el casco y la pulpa de la fruta fresca, y de la pulpa procesada y la mermelada de guayaba. El mayor contenido de polifenoles fue encontrado para la piel de la guayaba (10,36 g/100 g piel) y el menor en la mermelada (1,47g/100g mermelada), expresados en base seca. Se encontró que la capacidad antioxidante de la piel fue diez veces superior a la de la pulpa, y la de la mermelada el doble que la del casco.

**Palabras clave:** Capacidad antioxidante, guayaba, polifenoles, pulpa, mermelada.

**SUMMARY. Composition and antioxidant capacity of the guava (*Psidium guajava* L.) fruit, pulp and jam.** Guava (*Psidium guajava* L.) is a tropical fruit widely relished in the tropics, consumed fresh and processed. In this work, free acidity, pH, ash, nitrogen and water contents were measured, besides the total polyphenol content and the antioxidant capacity of the peel, the shell and the pulp of the fresh fruit and the processed guava pulp and jam. The highest phenolic content was found in the guava skin (10,36 g/100 g skin) and the lowest in the jam (1,47 g/100 g jam), in dry weight. The antioxidant capacity of the skin was 10 times higher than that of the pulp, and the jam was twice that of the shell.

**Key words:** Antioxidant capacity, guava, polyphenols, pulp, jam.

### INTRODUCCION

La guayaba (*Psidium guajava* L.) es una fruta tropical perteneciente a la familia Myrtaceae consumida tanto fresca como procesada en forma de pulpas, jugos, mermeladas y conservas, de gran aceptación en Venezuela. Sólo en la planicie de Maracaibo se cultivan más de 4000 Ha, donde las condiciones agroecológicas y el sistema de producción tradicional son favorables (1). El procesamiento tecnológico de la guayaba ofrece opciones de conservación de la fruta fresca para extender su vida útil. Las frutas contienen polifenoles, los cuales son metabolitos secundarios de las plantas con actividad antioxidante beneficiosa para la salud humana. En la Tabla de Composición de Alimentos del Instituto Nacional de Nutrición (2), se reportan valores de calorías, humedad, proteína, grasas, carbohidratos, fibras, cenizas, calcio, fósforo, hierro, magnesio, zinc, cobre, sodio, potasio, vitamina A,  $\beta$ -caroteno, riboflavina, tiamina, niacina, vitamina B<sub>6</sub> y ácido ascórbico, para la guayaba rosada. Sin embargo, en esta tabla no se incluyen los polifenoles. En un estudio previo realizado con mermeladas comerciales venezolanas, se evaluaron características físico-químicas y microbiológicas, pero tampoco se midió el contenido de polifenoles (3). El consumo de la guayaba reduce el estrés oxidativo y modifica el perfil lipídico, con lo cual reduce el riesgo de enfermedades causadas por radicales libres y el elevado colesterol sanguíneo (4).

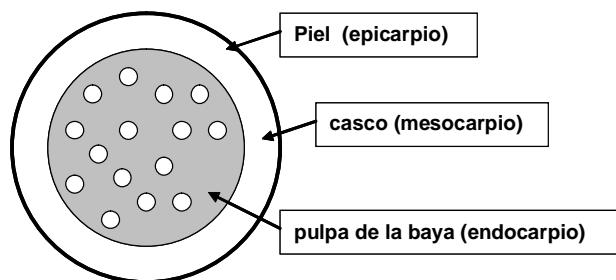
La pulpa de guayaba producida por la Empresa D'Fruta en la Planta Piloto del Departamento Ciencia de los Alimentos representa la opción más económica si se compara con otras pulpas como el durazno, la guanábana, la fresa y la mora, las cuales cuestan el doble. Por este motivo se inició la investigación de polifenoles en la fruta, la pulpa y la mermelada de esta aromática fruta. En el presente trabajo se comparó el contenido de polifenoles de la guayaba fresca y la guayaba procesada en forma de pulpa y mermelada, en base húmeda y base seca. También se comparó la capacidad antioxidante de la piel (L), el casco (C) y la pulpa de la semilla (S) de la guayaba fresca y del mismo lote procesado en forma de pulpa (P) y mermelada (M), en referencia a su composición de acidez, cenizas, humedad, pH y proteínas.

### MATERIALES Y METODOS

#### Guayabas

Un lote de 20 kg de guayabas rosadas de la empresa D'Fruta fue despulpado (5) y luego procesado como mermelada (6) hasta alcanzar 65°Brix por cocción con azúcar en marmita de vapor. Las guayabas frescas se homogeneizaron y se conservaron congeladas en un envase hermético hasta su análisis. A fin de conocer la relación del contenido de polifenoles totales entre la guayaba fresca y sus derivados, inicialmente se separaron tres fracciones (la piel, casco y pulpa de la baya) de 10 frutos maduros, ilustradas en la Figura 1.

FIGURA 1  
Fracciones de un corte de guayaba, desde la parte más externa hacia el centro de la fruta (piel, casco, pulpa de la baya)



### Análisis químicos

Los análisis físico-químicos se realizaron por duplicado siguiendo los métodos oficiales para determinar acidez libre, humedad, cenizas, pH y nitrógeno (7). Las fracciones de guayabas frescas se homogeneizaron y se conservaron congeladas en un envase hermético hasta su análisis. La acidez libre se evaluó en una solución preparada con  $2,5 \pm 0,1$  g de guayaba con 50 mL de agua recién destilada, titulados con una solución de NaOH 0,1 N. La humedad se midió por métodos gravimétricos en una estufa; para ello se pesaron  $2,0 \pm 0,1$  g de guayaba y de sus derivados en un crisol previamente tarado, se secaron en la estufa a  $70^\circ\text{C}$  durante 24 h, se enfriaron en un desecador hasta temperatura ambiente y se pesaron de nuevo para calcular por diferencia gravimétrica el agua evaporada durante el secado. Las cenizas se obtuvieron por incineración y se determinaron por métodos gravimétricos; para ello se utilizaron la guayaba y los derivados secos remanentes de la determinación de humedad y se colocaron en la mufla a  $550^\circ\text{C}$  durante 2 h, se enfriaron en un desecador hasta temperatura ambiente y se pesaron de nuevo para calcular por diferencia gravimétrica las cenizas resultantes de la incineración. El pH se midió con un pH-metro; para ello, se pesaron  $2,0 \pm 0,1$  g de guayaba y de sus derivados en un Erlenmeyer y se añadieron 50 mL de agua destilada recién hervida, se mezclaron con un agitador magnético durante 10 min, se filtraron y se determinó el pH introduciendo el electrodo en la solución, y leyendo en el potenciómetro recién calibrado con buffer pH 4,01. El contenido de nitrógeno se midió con el método de microKjeldhal, el cual consta de digestión con ácido sulfúrico, destilación, recolección y titulación; para ello, se pesaron  $100 \pm 10$  mg de guayaba y derivados, se transfirieron a un balón de digestión de microKjeldhal, junto con los catalizadores  $1,9 \pm 0,1$  g de sulfato de sodio y  $40 \pm 10$  mg de óxido de mercurio, se añadieron  $2,0 \pm 0,1$  mL de ácido sulfúrico y tres perlas de vidrio, se calentó la muestra en el diges-

tor hasta que se tornó transparente, se enfrió, se colocó vaselina en la boca de la botella, se disolvió con 5 mL de agua destilada en diluciones sucesivas de 1 mL que se vertieron en el destilador, luego de haber colocado la punta del refrigerante sumergida en un Erlenmeyer de 100 mL con 5 mL de ácido bórico al 4% y 2 gotas del indicador (rojo de metilo 0,2% + azul de metileno 0,2%, 2:1), se inició la destilación adicionando 8-10 mL de hidróxido de sodio y bisulfito de sodio pentahidratado ( $60\text{g} + 5\text{g}/100$  mL agua destilada) en el embudo, se cerró la llave y se encendió el generador de vapor, se recogieron 15 mL, se diluyó con agua destilada hasta 50 mL, se tituló con ácido clorhídrico 0,02 N y se calculó el porcentaje de proteínas utilizando el factor de corrección 6,25.

### Polifenoles totales

La concentración de polifenoles totales se midió por duplicado con el método colorimétrico que utiliza el reactivo Folin-Ciocalteu (8) con una curva de calibración preparada con ácido gálico (10-20-30-40 mg/L). La muestra de guayaba (0,1 g) se mezcló con 0,5 mL de reactivo Folin-Ciocalteu y 0,4 mL de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  al 7,5%, se permitieron 10 min de reacción a  $37^\circ\text{C}$  y se midió la absorbancia a 765 nm, con un espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 3B UV/VIS (Norwalk, Connecticut, USA). Los resultados obtenidos se expresaron como equivalentes de ácido gálico (EAG) en base húmeda y en base seca, para poder comparar las tres fracciones de fruta fresca con sus correspondientes derivados, pulpa y mermelada.

### Capacidad antioxidante

La capacidad antioxidante se evaluó por duplicado, con la decoloración del catión radical ABTS<sup>•+</sup> (9) conocida como actividad antioxidante total (AAT). Se preparó ABTS 7 mM y persulfato de amonio 4,9 mM, y se mezclaron 1:1. Se dejó reposar tapado con papel aluminio durante 16 horas. Se diluyó en etanol 20% hasta alcanzar una absorbancia de  $0,7 \pm 0,2$  a 740 nm; esto es aproximadamente 40  $\mu\text{L}$  de reactivo + 760  $\mu\text{L}$  de etanol. Se agregaron 10  $\mu\text{L}$  de la muestra, se agitó rápidamente y se midió el cambio de densidad óptica a 740 nm durante los primeros 6 minutos de reacción, con un espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 3B UV/VIS (Norwalk, Connecticut, USA). Luego se preparó una curva de calibración con Trolox 8 mM, 4 mM, 2 mM, 1 mM, 0 mM y se calculó el % de decoloración =  $(\text{D.O. sin antioxidante} - \text{D.O. muestra 6 min.}) \times 100 / \text{D.O. sin antioxidante}$ . La D.O. sin antioxidante es la densidad óptica después de realizar la dilución del reactivo.

## RESULTADOS

La Tabla 1 presenta valores de acidez (meq ácido/kg) que variaron entre 61,47 (C) y 81,33 (S), y el pH varió entre 3,8 y 4,1. Por evaluación sensorial, la pulpa de la baya es la por-

ción más ácida de la guayaba fresca. El contenido de cenizas (g cenizas/100 g) presentó valores entre 0,28 (P) y 0,66 (S). El contenido de nitrógeno (mg N/100 g) varió entre 56,57 (S) y 102,22 (M). Si bien la mermelada no se consume por su elevado contenido de proteínas, resulta que al concentrarse la pulpa durante la cocción, también se concentra la fracción nitrogenada.

**TABLA 1**  
Acidez, pH, contenido de cenizas y contenido de proteínas en la guayaba fresca y sus derivados

	Acidez (meq/kg)	pH	Cenizas (g/100 g guayaba)	Nitrógeno (mg/100 g guayaba)
<b>Guayaba fresca</b>				
Piel (L)	69,34 <sup>b</sup> (0,95)	4,1 <sup>a</sup> (0,1)	0,52 <sup>a</sup> (0,05)	81,87 <sup>ab</sup> (3,90)
Casco (C)	61,47 <sup>a</sup> (0,28)	3,9 <sup>a</sup> (0,0)	0,42 <sup>a</sup> (0,11)	92,21 <sup>ab</sup> (2,15)
Pulpa de la baya (S)	81,33 <sup>c</sup> (0,63)	3,8 <sup>a</sup> (0,0)	0,66 <sup>a</sup> (0,04)	56,57 <sup>a</sup> (0,49)
<b>Derivados de guayaba</b>				
Pulpa de fruta (P)	67,47 <sup>b</sup> (0,20)	3,9 <sup>a</sup> (0,1)	0,28 <sup>a</sup> (0,11)	91,39 <sup>ab</sup> (9,40)
Mermelada (M)	62,05 <sup>a</sup> (0,13)	3,8 <sup>a</sup> (0,0)	0,50 <sup>a</sup> (0,10)	102,22 <sup>b</sup> (7,11)

Los valores indican la media  $\pm$  (SEM), n = 2. Las diferencias estadísticamente significativas entre las fracciones de guayaba fresca y sus derivados se representan con diferentes letras en cada columna.

En la Tabla 2 puede apreciarse el mayor contenido de polifenoles totales en base húmeda en la piel de la guayaba, seguido por la pulpa de la baya y el casco, los cuales se promedian en la pulpa de fruta, la cual fue obtenida con la fruta entera. La expresión en base seca permite evidenciar el bajo contenido de polifenoles totales de la mermelada en comparación con la materia seca de la pulpa de fruta y de las tres fracciones de la fruta fresca.

Se encontró que la capacidad antioxidante de la piel fue diez veces superior a la de la pulpa de fruta, y la de la mermelada el doble del casco. La AAT de la piel es el triple de la AAT en el casco y el aproximadamente el doble de la pulpa de la baya y de la la fruta procesada.

**TABLA 2**  
Contenido de humedad, polifenoles totales y capacidad antioxidante (AAT) en la guayaba fresca y sus derivados

	Humedad (g/100 g guayaba)	Polifenoles totales (g EAG <sup>1</sup> /100 g guayaba)		AAT ( $\mu$ M de eq. Trolox)
		Base húmeda	Base seca	
<b>Guayaba Fresca</b>				
Piel (L)	84,00 <sup>b</sup> (0,45)	1,66	10,36	377,80 <sup>b</sup> (0,00)
Casco (C)	85,17 <sup>bc</sup> (0,18)	0,80	5,37	114,82 <sup>ab</sup> (0,00)
Pulpa de la baya (S)	86,22 <sup>c</sup> (0,16)	0,93	6,73	165,31 <sup>ab</sup> (24,43)
<b>Derivados de guayaba</b>				
Pulpa de fruta (P)	86,08 <sup>c</sup> (0,07)	0,86	6,16	38,66 <sup>a</sup> (54,67)
Mermelada (M)	23,21 <sup>a</sup> (0,22)	1,13	1,47	195,48 <sup>ab</sup> (55,59)

Los valores indican la media  $\pm$  (SEM), n = 2. Las diferencias estadísticamente significativas entre las fracciones de guayaba fresca y sus derivados se representan con diferentes letras en cada columna.

<sup>1</sup>Equivalentes de ácido gálico.

## DISCUSION

En la fruta fresca, la capacidad antioxidante aumenta con el contenido de polifenoles totales en la piel, la pulpa de la baya y el casco.

La transformación de la pulpa de fruta en mermelada, redujo el contenido de polifenoles totales presentes en la pulpa en un factor mayor de cinco, por lo que se recomienda consumir la pulpa de fruta en lugar de la mermelada, a fin de aprovechar los polifenoles contenidos en la fruta. El mayor contenido de polifenoles en la piel de la guayaba había sido reportado en un estudio previo (10); donde la relación del contenido de polifenoles entre la pulpa y la piel de guayaba fue casi la mitad del reportado en nuestro trabajo, 0,34 (2,62/7,79) a diferencia de 0,60 (6,16/10,36) mostrado en la Tabla 2. De esta tabla, también se puede inferir que el procesamiento tecnológico la mermelada concentra la AAT de la pulpa cinco veces, lo cual se explica en parte por la reducción de humedad (g agua/100 g) desde 86,10 (P) hasta 23,22 (M). Generalmente los carotenoides están más concentrados en la piel que en la fruta y aumentan con la maduración y su contenido es mayor en las frutas tropicales.

La capacidad antioxidante de las frutas y de sus derivados, sería un complemento funcional valioso para la Tabla de Composición de Alimentos del Instituto Nacional de Nutrición, como el aporte del presente estudio sobre la guayaba fresca, su pulpa y su mermelada. Cantidades moderadas de la guayaba en la dieta, proporcionan fibra dietaria y vitami-

nas antioxidantes asociadas con la disminución de lipoproteínas, presión (11) y glucosa sanguíneas (12). Utilizando un sistema micelar evaluado por sustancias reactivas con el ácido tiobarbitúrico (TBARS), se encontró que la guayaba muestra potencial para prevenir el estrés oxidativo in vitro (13).

Se reitera que si bien los polifenoles son antioxidantes beneficiosos para la salud humana, no han sido evaluados en la Tabla de Composición de Alimentos del Instituto Nacional de Nutrición y por ello esperamos hacer este aporte con el estudio de la guayaba fresca, su pulpa y su mermelada. También podría indicarse una referencia sobre el contenido de flavonoides como en la escala sugerida por Nair y col. (1998) para fruta fresca, con contenidos elevados (> 100 mg/100g) y medios (50-100 mg/100 g) (14).

La capacidad antioxidante evaluada por el método TBA, y el contenido de polifenoles totales fue mayor en la semilla que en la pulpa de guayaba (15). La actividad antioxidante de la piel de la guayaba fue mayor que la pulpa, porque la mayoría de las pieles de las frutas pueden exhibir una actividad antioxidante de 2 a 27 veces mayor que la pulpa (16). La actividad antioxidante como resultado de múltiples factores, no puede vincularse sólo al contenido de polifenoles (17). Tampoco puede ser explicado únicamente por la diferencia en el contenido de agua entre la piel y la pulpa. La cocción de los vegetales y frutas causa la reducción su actividad antioxidante y su concentración de polifenoles, tal como ocurrió en la mermelada de guayaba (13).

La guayaba, al igual que el te y la manzana, tiene un alto contenido de flavonoides (14), y al igual que tomate, la guayaba contiene licopenos (18). El consumo de guayaba reduce el estrés oxidativo, y el riesgo de enfermedades causadas por los radicales libres y la hipercolesterolemia (4). Mediante el consumo moderado de guayaba en la dieta, pueden ocurrir cambios en los ácidos grasos y en los carbohidratos; además de proveer de fibra dietética y vitaminas antioxidantes y minerales sin ningún efecto secundario, reduce el colesterol total, los triglicéridos y la presión arterial (11). El contenido de flavonoides es mayor en la hoja del guayabo que en sus frutos; por ello, podrían usarse para extraer flavonoides (19) y también para sugerir su consumo en formas menos tradicionales como extractos o infusiones.

En conclusión, se puede decir que la guayaba y los derivados aquí estudiados son una fuente económica de antioxidantes (polifenoles y flavonoides). Por esta razón, el consumo de esta fruta puede jugar un papel importante en la prevención de enfermedades relacionadas con la generación de radicales libres; como por ejemplo, el síndrome metabólico. Sería interesante poder incluir información sobre contenido de polifenoles y capacidad antioxidante de los alimentos en la Tabla de Composición de Alimentos del Instituto Nacional de Nutrición (2), comenzando quizás por las frutas y las hortalizas.

## AGRADECIMIENTOS

Al CDCHT-ULA por financiar el proyecto FA-343-05-03-F. Al Sr. Oscar Rojas, de la empresa D'Fruit por obsequiar la pulpa de guayaba.

## REFERENCIAS

1. Araujo FJ, Urdaneta T, Salazar N, Simancas R. Effect of plant density on the guava (*Psidium guajava* L.) yield in the Maracaibo, Venezuela plain. *Rev Fac Agron (LUZ)* 1999; 16 supl. 1:13-16.
2. Instituto Nacional de Nutrición. Tabla de Composición de Alimentos para Uso Práctico. Publicación No. 54. Serie Cuadernos Azules; Caracas (Venezuela): Instituto Nacional de Nutrición; 2001.
3. López R, Ramírez AO, Farinas LG. Physicochemical and microbiological evaluation of three commercial guava jams (*Psidium guajava* L.). *Arch Latinoamer Nutr* 2000; 50(3):291-5.
4. Rahmat A, Abu Bakar MF, Faezah N, Hambali Z. The effects of consumption of guava (*Psidium guajava*) or papaya (*Carica papaya*) on total antioxidant and lipid profile in normal male youth. *Asia Pac J Clin Nutr* 2004; 13(S):S106.
5. Vit P, Cardozo E, Moreno D. Aporte de estudiantes de Tecnología de Alimentos para un manual de calidad en la producción de pulpa de frutas. *Rev Fac Farmacia* 2002; 43:19-24.
6. Vit P, González I. Producción de Mermeladas. Mérida (Venezuela): Cátedra Tecnología de Alimentos, Facultad de Farmacia y Bioanálisis. 2004.
7. AOAC. Official Methods of Analysis. 14<sup>th</sup>. Ed. Arlington (VI): Association of Official and Analytical Chemists, INC; 1984.
8. Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventos RM Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu Reagent. *Meth Enzymol* 1999; 299: 152-178.
9. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Rad Biol Med* 1999; 26 (9/10):1231-37.
10. Jimenez-Escrig A, Rincon M, Pulido R, Saura-Calixto F. Guava fruit (*Psidium guajava* L.) as a new source of antioxidant dietary fiber. *J Agric Food Chem* 2001; 49(11):5489-93.
11. Singh RB, Rastogi SS, Singh R, Ghosh S, Niaz MA Effects of guava intake on serum total and high-density lipoprotein cholesterol levels and on systemic blood pressure. *Am J Cardiol*. 1992; 70(15):1287-91.
12. Yusof RM, Said M. Effect of high fibre fruit (Guava - *psidium guajava* L.) on the serum glucose level in induced diabetic mice. *Asia Pac J Clin Nutr* 2004; 13(Suppl):S135.
13. Tarwadi K, Agte V. Antioxidant and micronutrient quality of fruit and root vegetables from the Indian subcontinent and their comparative performance with green leafy vegetables and fruits. *J Sci Food Agric* 2005; 85:1469-1476.
14. Nair S, Nagar R, Gupta R. Antioxidant phenolics and flavonoids in common Indian foods. *J Assoc Physicians India* 46(8):708-10.

15. Huang HY, Chang ChK, Tso TK, Huang JJ, Chang WW, Tsai YCh. Antioxidant activities of various fruits and vegetables produced in Taiwan. *Int J Food Sci Nutr* 2004; 55(5):423-9.
16. Guo G, Yang J, Wei J, Li Y, Xu J, Jiang Y. (2003) Antioxidant activities of peel, pulp and seed fractions of common fruits as determined by FRAP assay. *Nutr. Res.* 2003; 23: 1719-1726.
17. Rodríguez-Amaya, D.B. Latin American food sources of carotenoids. *Arch Latinoamer Nutr* 1999; 49(3)Suppl 1:74S-84S.
18. Hassimotto NMA, Genovese MI, Lajolo FM. Antioxidant activity of dietary fruits, vegetables, and commercial frozen fruit pulps. *J Agric Food Chem* 2005; 53:2928-35.
19. Vargas Álvarez D, Soto-Hernández M, González-Hernández VA, Englerman EM, Martínez-Garza A. Cinética de acumulación y distribución de flavonoides en guayaba (*Psidium guajava* L.). *Agrociencia* 2006; 40:109-115.

Recibido: 14-11-2007

Aceptado: 17-12-2007

## The effects of different methods of cooking on proximate, mineral and heavy metal composition of fish and shrimps consumed in the Arabian Gulf

Abdulrahman O. Musaiger and Reshma D'Souza

Directorate of Nutritional Studies, Bahrain Centre for Studies and Research, Bahrain

**SUMMARY.** This study analyzed eight cooked species of fish and one species of shrimps (grilled, curried, fried and cooked in rice) commonly consumed in Bahrain for their proximate, mineral and heavy metal content. The results revealed that the protein content was in the range of 22.8-29.2 g/100g, while the fat content was between 2.9-11.9 g/100g. The energy content was the highest in the fried *Scomberomorus commerson* being 894.2 KJ/100g, followed by *Scomberomorus commerson* cooked in rice (867.3 KJ/100g). The samples also had a considerable content of sodium ranging from 120-600 mg/100g, potassium (310-560 mg/100g) phosphorous (200-330 mg/100g), magnesium (26-54 mg/100g) and zinc (0.4-2.0 mg/100g), while the other minerals were present to a lower extent. Lead was present to an extent of 0.30 µg/g in the grilled *Plectorhinchus sordidus* while *Lethrinus nebulosus* cooked in rice contained 0.35 µg/g of mercury. Cadmium levels were constant at <0.02 µg/g. It can be concluded the traditional methods of cooking fish and shrimps have an effect on their nutrient composition and heavy metal content hence, it is advisable to avoid excessive frying and use minimal salt. In addition, consuming of a wide variety of species of fish and alternating between the various modes of cooking is the best approach to achieve improved dietary habits, minimizing mercury exposure and increasing omega-3 fatty acid intake.

**Key words:** Fish, shrimp, cooking, proximate composition, minerals, heavy metals.

**RESUMEN. Efecto de diferentes métodos de cocción en la composición proximal, minerales y metales pesados de pescados y camarones consumidos en el Golfo Árabe.** Se analizó la composición proximal, contenido en minerales y metales pesados de ocho especies cocidas de pescado y una de camarón (asado a la parrilla, al curry, frito y cocido en arroz), de consumo frecuente en Bahrain. El contenido de proteínas varió entre 22.8 y 29.2 g/100 g y el de lípidos entre 2.9 y 11.9 g/100 g. El valor energético más elevado, 894.2 KJ/100 g, se encontró en el *Scomberomorus commerson* frito seguido por esta misma especie cocida con arroz. Todas las muestras presentaron el perfil de minerales siguiente (mg/100g): sodio 120-600; potasio 310-560; fósforo 200-330; magnesio 26-54 y zinc 0.4-2.0. Se encontraron cantidades menores de los otros minerales analizados. La especie *Plectorhinchus sordidus* a la parrilla, evidenció un contenido de plomo de 0,3 µg/g y el *Lethrinus nebulosus* cocido en arroz, un contenido de mercurio de 0.35 µg/g. Los niveles de cadmio se mantuvieron menores de 0.02 µg/g. Se concluye que los métodos tradicionales de cocción de los pescados y camarones, afectan su composición en cuanto al valor nutritivo y contenido en metales pesados, es aconsejable por lo tanto, evitar un tiempo prolongado de fritura y un exceso de sal. Un consumo variado de pescados y alternar los métodos de preparación y cocción, es la mejor manera de mejorar los hábitos alimentarios, disminuyendo exposición al mercurio a la vez que se asegura una elevada ingesta de ácidos grasos omega-3.

**Palabras clave:** Pescado, camarones, cocción, composición proximal, minerales, metales pesados.

### INTRODUCTION

Fish has long been a favorite meal of people living around the Arabian Gulf, even before the discovery of oils and natural gas (1). During the past 20 years, there has been renewed interest in dietary components such as fish, which are rich sources of omega-3 fatty acids, and might favorably improve lipid profiles and reduce risk of coronary heart disease (2). Additional reported benefits of fish consumption also include their hypolipidemic and/or antiatherogenic effects (3), decreased risk of prostate cancer (4), reduced occurrence of renal cell carcinoma in women (5), reduced risk of dementia and Alzheimer disease in certain conditions (6).

In the Arabian Gulf few studies have been carried out to assess the nutrient composition of fish. A study on the chemical composition of raw fish caught off the coast of Qatar indicated that fish was a good source of minerals and many trace elements (1). Many of the Arabian Gulf species of raw fish especially sardines were found to be a good source of omega-3 polyenoic fatty acids (7). Crab meat consumed in Bahrain was found to be a good source of high quality protein and minerals like calcium and phosphorous (8).

Although fish is a good source of some essential nutrients, cooking practices could cause modifications in proximate composition, fatty acids and amino acids as well as changes in solubility and nutritional quality of fish (9, 10). Another

study indicated that cooking of fish consumed in Saudi Arabia leads to alteration in cholesterol, fat and protein content but the cholesterol content of raw and cooked fishes was not directly correlated to fat content (11). Recent studies showed that that mercury intake from fish could counteract the beneficial effects from this food source (12). Researchers studied the effects of commonly used cooking practices on total mercury concentration in fish and found that in some cases mercury concentrations were increased with increased cooking times due to loss of moisture and fat (13). Of the heavy metals cadmium, lead, and mercury are potentially toxic; exposure to these metals can cause renal disturbances and neurological alterations (14).

Although reports are available on the composition of fish, studies to assess the chemical composition and nutritional profile of cooked fish and shrimps in the Arab Gulf countries are at most scanty. In addition, there is no information on the role of different cooking methods on the nutrient composition. This paper is therefore, an attempt to assess the chemical and heavy metal composition of cooked fish and shrimps commonly consumed in Bahrain prepared using the traditional methods of cooking.

## MATERIALS AND METHODS

All fish and shrimps were purchased from the central market in Manama city, the capital of Bahrain. Only the most commonly consumed fish and shrimps consumed in Bahrain were included in the study. Local, common and scientific names of these fishes and shrimps are presented in Table 1. The species of fish and shrimps consumed in Bahrain and the method of cooking are generally common to most of the Middle East region. The fish and shrimps were all caught off the coast of Bahrain and were landed several hours after the catch. On board they were kept covered with ice and were subsequently shipped in a refrigerated truck to the central market. About 5 kilogram of each type of whole fish and shrimps were obtained from the central market and were cleaned by scaling and gutting and removing the internal organs. They were washed with water and were subsequently cooked according to the most commonly employed practice for that particular species (15) (Table 2). These include grilling (*Liza alata*, *Siganus canaliculatus*, *Plectorhinchus sordidus*, *Rhabdosargus haffara*), frying (*Seriolina nigrofasciata*, *Lethrinus nebulosus*, *Scomberomorus commerson*), cooking in curry (*Scomberomorus commerson*, *Penaeus semisclatus*, *Lethrinus nebulosus*, *Siganus canaliculatus*), and cooking in rice (*Lethrinus nebulosus*, *Scomberomorus commerson*, *Penaeus semisclatus*, *Epinephelus areolatus*). The skin of the fish was removed after the cooking process and samples were prepared by grinding edible portions of the shrimps and fish (each species separately) for further analysis.

TABLE 1  
Local, common and scientific names of Arabian Gulf fish species included in the study

Local name	Common name	Scientific name
Hamman	Blackbanded Trevally	<i>Seriolina nigrofasciata</i>
Safai	Pearlspotted Rabbitfish	<i>Siganus canaliculatus</i>
Qurqufan	Haffara Bream	<i>Rhabdosargus haffara</i>
Kanad	Narrow-barred panish mackerel	<i>Scomberomorus commerson</i>
Maid	Diamond Mullet	<i>Liza alata</i>
Hammour	Grouper	<i>Epinephelus areolatus</i>
Yanam	Grey Grunt	<i>Plectorhinchus sordidus</i>
Shari	Spangled Emperor	<i>Lethrinus nebulosus</i>
Rubian	Tiger Shrimp	<i>Penaeus semisclatus</i>

## Proximate analysis

Proximate analysis was carried out using the standard procedures (16). Briefly, for moisture content, the sample was dried in a vacuum oven at 100°C and dried to a constant weight (approximately 5 hours). Protein and other organic nitrogen in the sample were converted to ammonia by digesting the sample with sulfuric acid containing a mercury catalyst mixture. The acid digest was made alkaline, and the ammonia was distilled and titrated with standard acid. The percent nitrogen was determined and converted to protein using the factor 6.25. For fat, the sample was hydrolyzed in a water bath using 8 M hydrochloric acid after addition of ethanol to liberate fat. The fat was extracted using ether and hexane. The extract was washed with a dilute alkali solution and filtered through a sodium sulfate column. The remaining extract was evaporated, dried and weighed. Carbohydrate was calculated using the standard equation  $100\% - (\% \text{ protein} + \% \text{ fat} + \% \text{ ash} + \% \text{ moisture})$  and the energy evaluation was done by multiplying the protein, carbohydrate and fat by the factors 4, 4 and 9 respectively. All samples were analyzed in triplicates and concentrations were reported on a wet weight basis (g/100g).

## Mineral composition

The samples was weighed into a borosilicate calibrated flask to which 4ml of concentrated HNO<sub>3</sub> and 1ml of 30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> were added and microwave digested. The samples were cooled and made up to volume before analysis and the mineral elements measured using a flame system (Air acetylene flame). Pyrolytically coated graphite tubes in an inert atmosphere of argon were used in the furnace. Mineral composition was determined in triplicates by the atomic absorption spectrophotometry (AAS) and graphite furnace (GFAAS) and reported as wet weight basis (16).

TABLE 2  
Ingredients and methods of preparation of fish commonly consumed in Bahrain

Local name	Common name	Ingredients	Method of preparation
Samak mashwie	Grilled fish	Fish, spices	Marinate fish in spices and grill till done
Saloonat samak/ rubian	Curried fish/shrimps	Fish/shrimps, onions, tomato, egg-plant, garlic, green coriander, tomato paste, corn oil, salt, mixed spices, ripe tamarind, Fry in hot oil. dried lemon, water	Marinate fish/shrimps in salt for 1 hour. Wash with water, Fry in hot oil. Wash with water, Brown onions and garlic in oil. Add fish/shrimps and other ingredients and cook under low heat till done.
Samak maglee	Fried fish	Fish, corn oil, salt, spices	Marinate fish in salt for 1 hour. Wash with water, fry in hot oil until brown.
Ayash bil samak/rubian	Fish/shrimps cooked in rice	Fish/shrimps, rice, onions, garlic, potato, corn oil, butter, salt, mixed spices, ground cardamom, dried lemon, chopped pepper, water	Marinate fish/shrimps in salt for 1 hour. Wash with water, fry in hot oil until brown. Brown onions and garlic add rest of ingredients and saut Boil rice. Place rice, fish/shrimps with rest of the ingredients and cook till done.

### Heavy metal analysis

One fillet consisting of muscle tissue was selected for each species and macerated in a high-speed blender. Duplicate sub-samples were extracted for estimation of mercury, lead and cadmium. About 0.5g of the homogenate was digested under pressure with HNO<sub>3</sub>. Lead and Cadmium were determined by graphite furnace AAS using Perkins Elmer™ Zeeman 3030 spectrophotometer. For mercury, the prepared samples were analyzed using a Perkins Elmer™ mercury analyzer system (16). All concentrations were reported on a wet weight basis (µg/g). Each analytical run was carried out in triplicates for each of the sample. The accuracy of the trace element determinations was confirmed with certified standard reference materials as per procedure.

## RESULTS

### Proximate content

The proximate composition of cooked fish and shrimps consumed in Bahrain is presented in Table 3. There was no considerable difference in the water content in different varieties of cooked fishes however, it was lower in the fried fish variety, and the lowest content was in the fried *Lethrinus nebulosus* (56.4 g/100g). The protein content appeared to increase as a result of cooking in rice as evident by the increased protein content in *Penaeus semisclatus* (29.2 g/100g), *Lethrinus nebulosus* (27.9 g/100g) and *Scomberomorus commerson* (24.9 g/100g) compared to their respective curried varieties. Fat content was considerable in all the varieties of *Scomberomorus commerson*, with no considerable difference between the fried (11.9 g/100g), cooked in rice (12.0 g/100g) and curried (10. g g/100g) varieties. As expected, energy content increased as a result of frying as evident by the fried *Scomberomorus commerson* (894.2 KJ/100g) compared to the curried (759.3 KJ/100g) and cooked in rice (867.3 KJ/100g) varieties.

### Mineral content

The mineral content in cooked fish and shrimps is given in Table 4. There was no variation in the iron content in all the varieties of fried fish (0.6 mg/100g) while only a slight variation was seen in the grilled variety (0.4-0.6 mg/100g). The highest iron content was in the curried *Scomberomorus commerson* (1.0 mg/100g). Sodium content was generally lower in most of the fish cooked in rice but, *Penaeus semisclatus* (500 mg/100g) had higher sodium content. Sodium content for all the other varieties varied between the cooking methods and species, the highest content was in the fried *Scomberomorus commerson* (600 mg/100g). Potassium content was higher in all the fried fish (500-560 mg/100g) ranging from 500-560 mg/100g. It is also observed that *Penaeus semisclatus* had low levels of potassium compared to other varieties of fish. On the other hand calcium level was highest in the *Penaeus semisclatus* (92 mg/100g in curried and 100 mg/100g in cooked in rice) and furthermore, cooking in rice appeared to reduce the calcium content in fish. There was not much of a difference in the magnesium content in most species of fish and the highest levels were in the *Penaeus semisclatus* (49 mg/100g in curried and 54 mg/100g in cooked in rice). Of the fishes the fried *Lethrinus nebulosus* had the highest levels of magnesium (40 mg/100g). Phosphorous content was highest in the fried fish varieties (320-330 mg/100g) while the other 3 methods did not show much of a variation. Apart from frying, cooking in rice improved the phosphorous content as evident by the increase seen in *Lethrinus nebulosus* (280 mg/100g) compared to curried *Lethrinus nebulosus* (250 mg/100g). Zinc levels were also higher in *Penaeus semisclatus* (2.0 mg/100g cooked in rice and 1.8 mg/100g in curry) and among the fish the highest levels were seen in the grilled and curried *Siganus canaliculatus* (1.0 and 1.1 mg/100g respectively). On the other hand *Scomberomorus commerson* had low zinc content (0.4 mg/100g).

TABLE 3  
Proximate composition of cooked fish commonly consumed in Bahrain (g/100g)

Method of cooking and type of fish used (common and scientific names)	Water	Prot -ein	Fat	Ash	Carbohy- -drate	Energy	
						KJ	Kcal
Grilled							
<i>Liza alata</i> (Diamond Mullet)	64.5	24.2	10.5	1.9	0.0	799.9	191.2
<i>Siganus canaliculatus</i> (Pearlspotted Rabbitfish)	68.0	27.3	4.3	2.5	0.0	623.2	148.9
<i>Plectorhinchus sordidus</i> (Grey Grunt)	68.6	25.9	5.6	1.8	0.0	647.5	154.8
<i>Rhabdosargus haffara</i> (Haffara Bream)	73.8	22.8	1.8	1.9	0.0	454.2	108.6
Curried							
<i>Scomberomorus commerson</i> (Narrow-barred Spanish mackerel)	66.1	22.9	10.0	1.9	0.0	759.3	181.5
<i>Penaeus semislcatus</i> (Tiger Shrimp)	70.1	24.6	1.9	2.3	1.1	507.2	121.2
<i>Lethrinus nebulosus</i> (Spangled Emperor)	69.0	25.4	4.9	1.9	0.0	613.1	146.5
<i>Siganus canaliculatus</i> (Pearlspotted Rabbitfish)	69.5	23.4	5.2	2.5	0.0	590.2	141.1
Fried							
<i>Seriolina nigrofasciata</i> (Blackbanded Trevally)	67.3	27.8	4.2	2.1	0.0	628.0	150.0
<i>Lethrinus nebulosus</i> (Spangled Emperor)	56.4	25.9	7.0	2.8	0.0	699.3	167.0
<i>Scomberomorus commerson</i> (Narrow-barred Spanish mackerel)	60.5	26.7	11.9	2.8	0.0	894.2	213.7
Cooked in rice							
<i>Lethrinus nebulosus</i> (Spangled Emperor)	67.3	27.9	4.9	2.0	0.0	655.6	156.7
<i>Scomberomorus commerson</i> (Narrow-barred Spanish mackerel)	63.4	24.9	12.0	1.9	0.0	867.3	207.3
<i>Penaeus semislcatus</i> (Tiger Shrimp)	62.7	29.2	5.6	2.4	0.1	705.3	168.6
<i>Epinephelus areolatus</i> (Grouper)	70.2	27.3	3.2	1.4	0.0	582.5	139.2

TABLE 4  
Mineral composition of cooked fish commonly consumed Bahrain (mg/100g, wet weight)

Method of cooking and type of fish used (common and scientific names)	Fe	Na	K	Ca	Mg	P	Cu	Zn
Grilled								
<i>Liza alata</i> (Diamond Mullet)	0.6	400	330	33	29	210	1.3	0.8
<i>Siganus canaliculatus</i> (Pearlspotted Rabbitfish)	0.5	510	480	42	32	270	0.5	1.0
<i>Plectorhinchus sordidus</i> (Grey Grunt)	0.4	220	360	21	26	200	0.5	0.4
<i>Rhabdosargus haffara</i> (Haffara Bream)	0.4	320	390	23	28	240	0.4	0.6
Curried								
<i>Scomberomorus commerson</i> (Narrow-barred Spanish mackerel)	1.0	350	420	13	30	240	1.0	0.4
<i>Penaeus semislcatus</i> (Tiger Shrimp)	0.4	540	230	92	49	250	3.3	1.8
<i>Lethrinus nebulosus</i> (Spangled Emperor)	0.5	280	400	23	28	250	0.3	0.6
<i>Siganus canaliculatus</i> (Pearlspotted Rabbitfish)	0.9	530	330	64	30	220	0.5	1.1
Fried								
<i>Seriolina nigrofasciata</i> (Blackbanded Trevally)	0.6	320	500	61	35	320	0.5	0.7
<i>Lethrinus nebulosus</i> (Spangled Emperor)	0.6	590	560	52	40	320	0.4	1.0
<i>Scomberomorus commerson</i> (Narrow-barred Spanish mackerel)	0.6	600	530	22	37	330	0.3	0.8
Cooked in rice								
<i>Lethrinus nebulosus</i> (Spangled Emperor)	0.4	130	410	10	32	280	0.8	0.5
<i>Scomberomorus commerson</i> (Narrow-barred Spanish mackerel)	0.7	120	400	10	30	240	0.1	0.4
<i>Penaeus semislcatus</i> (Tiger Shrimp)	0.9	500	250	100	54	280	0.6	2.0
<i>Epinephelus areolatus</i> (Grouper)	0.3	190	310	16	31	220	0.4	0.6

### Heavy metal content

The heavy metal content in cooked fish and shrimps is presented in Table 5. Lead content was generally low (<0.02 µg/g) in most of the species of fish. There was no difference in the lead content between curried and cooked in rice *Penaeus semisclatus* (0.04 µg/g). Lead content of curried *Lethrinus nebulosus* was higher (0.02 µg/g) than the same fried (<0.02 µg/g) and cooked in rice (<0.02 g/g) varieties. Mercury content was higher in *Lethrinus nebulosus* (0.04-0.35 µg/g) and *Scomberomorus commerson* (0.12-0.30 µg/g). Cooking in rice increased the mercury content in the fish species and also in *Penaeus semisclatus*. The cadmium levels remained steady at <0.02 g/g for all the methods of cooking employed.

TABLE 5  
Heavy metal content in cooked fish commonly consumed in Bahrain (µg/g)

Method of cooking and type of fish used (common and scientific names)	Lead	Mercury	Cadmium
Grilled			
<i>Liza alata</i> (Diamond Mullet)	0.14	<0.02	<0.02
<i>Plectorhinchus sordidus</i> (Grey Grunt)	0.30	<0.02	<0.02
<i>Siganus canaliculatus</i> (Pearlspotted Rabbitfish)	<0.02	0.09	<0.02
<i>Rhabdosargus haffara</i> (Haffara Bream)	<0.02	0.05	<0.02
Curried			
<i>Scomberomorus commerson</i> (Narrow-barred Spanish mackerel)	<0.02	0.12	<0.02
<i>Penaeus semisclatus</i> (Tiger Shrimp)	0.04	<0.02	<0.02
<i>Lethrinus nebulosus</i> (Spangled Emperor)	0.02	0.14	<0.02
<i>Siganus canaliculatus</i> (Pearlspotted Rabbitfish)	0.20	<0.02	<0.02
Fried			
<i>Seriolina nigrofasciata</i> (Blackbanded Trevally)	<0.02	<0.02	<0.02
<i>Lethrinus nebulosus</i> (Spangled Emperor)	<0.02	0.04	<0.02
<i>Scomberomorus commerson</i> (Narrow-barred Spanish mackerel)	0.20	0.24	<0.02
Cooked in rice			
<i>Lethrinus nebulosus</i> (Spangled Emperor)	<0.02	0.35	<0.02
<i>Scomberomorus commerson</i> (Narrow-barred Spanish mackerel)	<0.02	0.30	<0.02
<i>Penaeus semisclatus</i> (Tiger Shrimp)	0.04	0.05	<0.02
<i>Epinephelus areolatus</i> (Grouper)	<0.02	0.29	<0.02

\*<0.02 µg/g are instrumentally detected values

### DISCUSSION

The protein content was generally high in the shrimps and all the species of fish studied, which is an expected outcome since fish and shrimps are a good source of protein (17, 18). The higher protein content observed in *Penaeus semisclatus* cooked in rice is over the curried variety is due to concentration of meat as a result of moisture loss. Further evidence of this is seen in the fact that *Penaeus semisclatus* cooked in curry had

lower protein content but had higher moisture values. This can be attributed to absorption of water from the cooking medium thereby causing dilution of the muscle tissue analyzed. This higher protein content in fish and shrimps is important from a dietary point of view since; the quality of fish protein is very high because of its essential amino acid composition (19). Further, reports also indicate that fish muscle is more digestible than other animal protein due to lower level of connective tissue (20). At the same time it is important to note that depending on the food and on the temperature and duration of cooking, a food can become more, or less, digestible. Seidler (21) studied the effects of heating on the digestibility of the protein in hake, a type of fish and found fish meat heated for 10 minutes at 130°C (266°F), showed a 1.5% decrease in protein digestibility. Similar heating of hake meat in the presence of potato starch, soy oil, and salt caused a 6% decrease in amino acid content.

An important factor to be considered while cooking is its influence on the fat content of the fish and shrimps. If we compare the fat content for the *Scomberomorus commerson* that was fried, curried and cooked in rice, we see that, there is not much of a difference between frying and cooking in rice, but curried *Scomberomorus commerson* has lower fat content. The higher fat content in the fried variety is a result of uptake of oil by the fish muscles and similar findings have been previously reported (22). This logic also holds good for fish cooked in rice where the increase in fat is due to the method of preparation employed, where generally, the fish is first fried and then added to the rice. Further increase in the fat could be a result of uptake of oil added to the rice during cooking. Similarly, if we were to compare the effect of the same three modes of cooking on the fat content of the *Lethrinus nebulosus* we see that the values for the curried and cooked in rice *Lethrinus nebulosus* are similar but those for fried are higher. This variation in fat content is mainly because, though fish muscles tend to absorb fat during the frying/cooking process, some fish muscles absorb more fat than others (11). Hence, the difference in the fish muscles used for frying and cooking in rice in this study could have caused the discrepancy in oil absorption.

The lower fat content in the curried *Scomberomorus commerson* is mainly due to absorption of water used in the curry. The absorption of water is evident when we compare the fried *Lethrinus nebulosus* and *Scomberomorus commerson* with the curried *Lethrinus nebulosus* and *Scomberomorus commerson* wherein, the latter method of cooking shows higher moisture values. Though curried fish has lower fat values, if further reduction in fat content is desirable then, the most suitable method of cooking fish would be grilling. This decrease in fat is evident when we compare the fat values between the grilled and curried *Siganus canaliculatus*, wherein the former has lower fat values by up to 1.0% w/w. This

decrease in fat on grilling is due to the leeching of fat in the cooking drip and is in accordance to a study on the effect of grilling on the fat content of salmon where a loss of 11.7% in fat was seen (23).

The sodium levels were considerable in shrimps and most of the fish which is mainly due to the salt added to the diet to make it more palatable than the same diets without salt (24). In addition previous reports on the chemical composition and functional properties of prawns in Nigeria (18) indicate that prawns contain a good amount of sodium. The lower levels of sodium in the rice dishes could be due to the absorption of the salt by rice. Potassium levels were generally high in all the fish but when the different methods were compared we found the levels were the highest in the fried fish. One reason for this could be due to the loss of water on frying thereby causing a concentration of meat thus reflected by increased potassium values. This concentration effect on frying of food has been attributed to loss of moisture as a result of frying (13). Similar was the case with phosphorous where the high levels in the fried fishes can be attributed to concentration of meat and use of spices in the preparation, as spices from seeds are high in phosphorus (25). The higher content of magnesium and calcium in *Penaeus semislicatus* cooked in rice is a reflection of the high content of these minerals in various prawn species (18) with probably a marginal contribution of magnesium from the rice itself (26). The lower level of calcium in the rest of the fishes is because the main reservoirs for calcium in fish are the scales as well as bone (27). In general practice of cooking, the scales are discarded during cleaning thereby limiting the contribution of calcium by fish in a diet. Iron and copper were generally low in all the varieties of cooked fish tested with not much of a variation observed between the various modes of cooking. Furthermore, decrease in the iron content in the fried fish compared to the curried variety can be attributed to the spices such as dried lemon and tamarind which contain considerable amount of iron and are used in the preparation of curry (28). Only curried *Penaeus semislicatus* showed high levels of copper which could be a result of contribution from the spices commonly used in the Arabian Gulf region.

Results for the heavy metals did not indicate much variation for lead among different modes of cooking. There was no difference in lead content in the curried *Scomberomorus commerson* and that cooked in rice but, fried *Scomberomorus commerson* showed a slight increase. The increase in the lead level is again due to loss of moisture and resultant concentration of meat (13). Comparison between different values for the *Lethrinus nebulosus* indicated an increase in lead values in the curried *Lethrinus nebulosus*, while the other two values remained comparable. This increase in lead could be due to the ingredients used in cooking, and, recent studies indicate that spices could contain high levels of lead due to contamination (29). Some varieties of fish also contained

mercury though they were within the safe limits of consumption of 0.5mg/kg of fish (30). One way of reducing exposure to mercury could be by removing the skin and fat from these fish before cooking them; however, because methylmercury is distributed throughout the muscle, skinning and trimming does not significantly reduce mercury concentrations in filets (31). Mercury levels were generally higher in the fish cooked in rice which is because rice cooked in Bahrain also contains added spices, which are a source of heavy metals (32). The various modes of cooking had no effect on the cadmium content of fish and any amount of cadmium reported was from the original source which was the raw fish.

## CONCLUSIONS

The different modes of cooking employed in Bahrain did have a considerable influence on the nutrient and heavy metal composition of fish and shrimps. It is found that including *Penaeus semislicatus* as a regular part of the diet would be beneficial due to its high content calcium, magnesium, phosphorus, copper, zinc and protein. The high content of zinc is important since zinc deficiency affecting the growth of the children and adolescents in the Arab Middle East countries including the Gulf States has been reported (33). Curried *Scomberomorus commerson* could be a good source of iron especially since iron deficiency anemia is quite common in the Arab Gulf region (34). However, avoidance of excessive frying, minimal use of salt and opting for grilling would be beneficial as far as controlling excessive fat and sodium is concerned. This is all the more important since obesity, coronary heart disease and hypertension are a growing menace in the Arab Middle East, the main reason being the pattern of food consumption (35). Consumption of a wide variety of species of fish and alternating between the various modes of cooking is the best approach to achieve improved dietary habits, minimizing mercury exposure and increasing omega-3 fatty acid intake.

## REFERENCES

1. Al-Jedah JH, Robinson RK. Aspects of the safety of the fish caught off the coast of Qatar. Food control. 2001; 12: 549-52.
2. Stone NJ. Fish consumption, fish oil, lipids, and coronary heart disease. Circulation 1996; 94: 2337-40.
3. Harris WS. Fish oils and plasma lipid and lipoprotein metabolism in humans: a critical review. J Lipid Res 1989; 30: 785-807.
4. Terry P, Lichtenstein P, Feychting M, Ahlbom A, Wolk A. Fatty fish consumption and risk of prostate cancer. Lancet 2001; 357 (9270): 1764-66.
5. Wolk A, Larsson SC, Johansson JE, Ekman P. Long-term Fatty Fish Consumption and Renal Cell Carcinoma Incidence in Women. JAMA 2006; 296:1371-76.

6. Huang TL, Zandi PP, Tucker KL, Fitzpatrick AL, Kuller LH, Fried LP, Burke G L, Carlson MC. Benefits of fatty fish on dementia risk are stronger for those without APOE 4. *Neurology* 2005; 65:1409-14.
7. Kotb AR, Hadeed A, Al-Baker AA. Omega-3 polyunsaturated fatty acid content of some popular species of Arabian Gulf fish. *Food Chem* 1991; 40: 185-90.
8. Musaiger AO, Al-Rumaidh MJ. Proximate and mineral composition of crab meat consumed in Bahrain. *Int J Food Sci Nutr* 2005; 56 (4): 231-5.
9. Castrillon AM, Navarro P, Alvarez-Pontes E. Changes in chemical composition and nutritional quality of fried sardine (*Clupea pilchardus*) produced by frozen storage and microwave reheating. *J Sci Food Agric* 1997; 75 (1): 125-32.
10. Yamamoto Y, Imose K. Changes in fatty acid composition in sardines (*Sardinops melanosticta*) with cooking and refrigerated storage. *J Nutr Sci Vitaminol* 1989; 35 (1): 39-47.
11. Ewaidah EH. Cholesterol Fat and Food energy content of selected raw and cooked commercial fish species from the Arabian Gulf. *Ecol Food Nutr* 1993; 30: 283-92.
12. Alonso A, Martinez-Gonzalez MA, Serrano-Martinez M. Fish omega-3 fatty acids and risk of coronary heart disease. *Med Clin* 2003; 121 (1): 28-35
13. Morgan JN, Berry MR, Graves RL. Effects of commonly used cooking practices on total mercury concentration in fish and their impact on exposure assessments. *J Expo Anal Environ Epidemiol* 1997; 7 (1): 119-33.
14. Peixoto NC, Roza T, Pereira ME. Sensitivity of delta-ALA-D (E.C. 4.2.1.24) of rats to metals in vitro depends on the stage of postnatal growth and tissue. *Toxicol. in Vitro* 2004; 18 (6): 805-9.
15. Musaiger AO. Traditional dishes in Bahrain. Ministry of Information, Bahrain, 1988.
16. AOAC. Official method of analysis. Association of Official Analytical Chemists, Washington DC; 1990
17. Tidwell JH, Allan GL. Fish as food: aquaculture's contribution Ecological and economic impacts and contributions of fish farming and capture fisheries. *Science & Society* 2001; 2 (11): 958-63.
18. Abulude FO, Lawal LO, Ehikhamen G, Adesanya WO, Ashafa SL. Chemical composition and functional properties of some prawns from the coastal area of Ondo state, Nigeria. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry* 2006; 5 (1): 1235-40.
19. Beklevik G, Polat A, Ozogul F. Nutritional value of Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*) filets during frozen (-18°C) storage. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Science* 2005; 29: 891-95.
20. Al-Jedah JH, Ali MZ, Robinson RK. The nutritional importance to local communities of fish caught off the coast of Qatar. *Nutrition and Food Science* 1999; 6: 288-94.
21. Seidler, T. Effects of additives and thermal treatment on the content of nitrogen compounds and the nutritive value of hake meat. *Die Nahrung* 1987; 31(10): 959-70.
22. Echarte M, Zulet MA, Astiasaran I. Oxidation process affecting fatty acids and cholesterol in fried and roasted salmon. *J Agric Food Chem* 2001; 49 (11): 5662-7.
23. Pena MG, Samperio MA. The effects of frying and grilling on the fat content of common foods (salmon, hake and beefsteak). *Rev Clin Esp* 1994; 194 (11): 966-9.
24. Beauchamp GK, Engelman K. High salt intake. Sensory and behavioral factors. *Hypertension* 1991; 17 (1S): I176-81.
25. Murphy EW, Marsh AC, Willis BW. Nutrient content of spices and herbs. *J Am Diet Assoc* 1978; 72 (2): 174-6.
26. Schamschula RG, Sugar E, Un PS, Duppenenthaler JL, Toth K, Barmes DE. Aluminium, calcium and magnesium content of Hungarian foods and dietary intakes by children aged 3.9 and 14 years. *Acta Physiol Hung* 1988; 72 (2): 237-51.
27. Rotlant J, Redruello B, Guerreiro PM, Fernandes H, Canario AV, Power DM. Calcium mobilization from fish scales is mediated by parathyroid hormone related protein via the parathyroid hormone type 1 receptor. *Regul Pept* 2005; 132 (1-3): 33-40.
28. Musaiger, AO. Food composition tables for the Arab Gulf countries. Arab Center for Nutrition, Bahrain; 2006
29. Woolf AD, Woolf NT. Childhood lead poisoning in 2 families associated with spices used in food preparation. *Pediatrics* 2005; 116 (2): 314-8.
30. Waterman JJ. Composition and quality of fish: a dictionary. Torry research note no. 87, Torry Research Station, Aberdeen, 1987.
31. Kris-Etherton PM, Harris WS, Lawrence J. Fish consumption, fish oil, omega-3 fatty acids, and cardiovascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; 23:e20.
32. Sattar A, Wahid M, Durrani SK. Concentration of selected heavy metals in spices, dry fruits and plant nuts. *Plant Foods Hum Nutr* 1989; 39 (3): 279-86.
33. Musaiger, A.O., Miladi, S. (1996) Proceedings of workshop on Establishing food composition of the Arab countries of the Gulf, FAO/RNE, Cairo, Egypt
34. Musaiger, A.O. (2002), "Iron deficiency anaemia among children and pregnant women in Arab Gulf countries: the need for action", *Nutrition and Health*, Vol.16 No.3, pp.161-71.
35. Musaiger AO. Diet and prevention of coronary heart diseases in the Arab Middle East countries. *Med Princ Pract* 2002; 11 (2S): 9-16S.

Recibido: 25-07-2007

Aceptado: 29-01-2008