

Archivos Latinoamericanos de Nutrición

Organo Oficial de la
Sociedad Latinoamericana de Nutrición

VOL 57

JUNIO 2007

Nº 2

Contenido

Páginas

EDITORIAL 107

ARTICULOS GENERALES

Pigmentos carotenoides: consideraciones estructurales y fisicoquímicas

Antonio J. Meléndez-Martínez, Isabel M. Vicario, Francisco J. Heredia 109

TRABAJOS DE INVESTIGACION

Nutrición Humana

Bone mineralization in Brazilian adolescents: the years of maximum bone mass incorporation

Carla C. Silva, Tamara B. L. Goldberg, Altamir S. Teixeira, José C. Dalmas 118

Nivel socioeconómico y estado nutricional. Un estudio en escolares

Daniela Adjemian, Patricia Bustos, Hugo Amigo 125

Bioquímica Nutricional

Asociación de la longitud de segmentos corporales y de la composición corporal con la presión arterial en adultos jóvenes

Martha Kauffer-Horwitz, Diana Vélez-Moreno, Maribel Pérez-Raygoza, Elizabeth García-Espíndola, Luz Ma. Goti-Rodríguez, Héctor Ávila-Rosas 130

Comparison of the anthropometric and biochemical variables between children and their parents <i>Juliana Farias de Novaes, Sylvia do Carmo Castro Franceschini, Sílvia Eloiza Priore</i>	137
Estudio comparativo entre dos fuentes alimentarias aportadoras de ácidos grasos poliinsaturados n-3 y su efecto sobre el timo y el perfil lipídico de ratas <i>Inés Fernandez, Anabel N. Pallaro y Nora H. Slobodianik</i>	146
Nutrición y Salud Pública	
Alimentación y suficiencia energética en indígenas migrantes de los Altos de Chiapas, México <i>Isabel Reyes Posadas, Austreberta Nazar Beutelspacher, Erin Estrada Lugo, Verónica Mundo Rosas</i>	155
Educación Nutricional	
A short training program improves the accuracy of portion-size estimates in future dietitians <i>Marta Arroyo, Concepción Martínez de la Pera, Laura Ansotegui, Ana M^a Rocandio</i>	163
Microbiología de Alimentos	
Determinación de ocratoxina A en plasma humano y en café de Costa Rica por un método de ELISA <i>Eugenia María Quintana Guzmán, Florencia Antillón Guerrero, Jessica Azofeifa Chaves</i>	168
Nutrición Animal	
Alto contenido de ácido linoleico conjugado (CLA) en leche y productos derivados al incorporar semillas de girasol a la dieta vacuna. Implicaciones sobre el riesgo trombo/aterogénico <i>Eryck R. Silva Hernández, Ma. Miriam Suarez Jácome, Rosa Guadalupe Herrera Lee, Takuo Nakano, Lech Ozimek y Iñigo Verdalet Guzmán</i>	173
Ciencia de Alimentos	
Effect of a probiotic mixed culture on texture profile and sensory performance of Minas fresh cheese in comparison with the traditional products <i>Flávia C. A. Buriti, Tania Y. Okazaki, João H. A. Alegro, Susana M. I. Saad</i>	179
Utilización de residuos de la industria de jugos de naranja como fuente de fibra dietética en la elaboración de alimentos <i>Sáenz Carmen, Estévez Ana María y Sanhuesa Sergio</i>	186
Aceleración de la deshidratación osmótica de frambuesas (<i>Rubus idaeus</i>) por medio de calentamiento óhmico <i>Ricardo Simpson R., Maite Jiménez P., Erica Carevic G. y Romina Grancelli M.</i>	192
NOTAS	196
INFORMACION PARA LOS AUTORES	203

EDITORIAL

La Sociedad Latinoamericana de Nutrición, SLAN (2006-2009)

La **Sociedad Latinoamericana de Nutrición** tiene como propósito fundamental estimular la difusión del conocimiento en el campo de la alimentación y nutrición, propiciar el intercambio de experiencias entre investigadores y contribuir a definir propuestas para la solución de los problemas nutricionales que afectan a los países de América Latina.

Los desafíos y tareas pendientes en este campo son enormes. A pesar del crecimiento económico de algunos países de la región, la desnutrición sigue siendo un grave problema de salud pública, tragedia humana que además inhibe el desarrollo de los países. Los Objetivos de Desarrollo del Milenio han permitido ubicar al hambre y la desnutrición al más alto nivel de las agendas públicas, pero los avances en el grado de cumplimiento de las metas es aún insuficiente. Por otra parte la obesidad ha alcanzado caracteres de epidemia a lo largo de todo el ciclo vital, con sus negativos efectos sobre la salud, directamente o por su asociación con otras enfermedades crónicas no transmisibles. De los diez factores de riesgo identificados por la OMS para el desarrollo de enfermedades crónicas, cinco están estrechamente relacionados con la alimentación y el ejercicio físico. A diferencia de la desnutrición, tenemos bastante menos conocimientos sobre cuales son las estrategias más costo-efectivas para prevenir y tratar la obesidad en las distintas etapas de la vida.

La acción de nuestra Sociedad y de sus Capítulos Nacionales debiera ser prioritaria en la solución de estos problemas, que no debe limitarse a nuestro tradicional Congreso trienal o a las publicaciones que hacemos a través de Archivos Latinoamericanos de Nutrición, sino permanentemente a través de Congresos Nacionales, reuniones de expertos y en todas las instancias de participación, tanto a nivel académico como político.

El Directorio de SLAN 2006-2009 constituido por el Dr. Manuel Hernández, Vicepresidente, la Dra. Patricia Bustos, Tesorera y el Dr. Manuel Ruz, Secretario, los invita a asumir un rol más activo en sus respectivas áreas de trabajo, para lograr que nuestra América Latina supere la lacra de la desnutrición y avance más rápidamente en la prevención de la obesidad y enfermedades asociadas. Esta debiera ser nuestra meta y nuestro compromiso para el año 2015, cuando celebremos medio siglo de existencia de nuestra Sociedad. Esperamos que en el XV Congreso Latinoamericano de Nutrición, que se realizará en Santiago de Chile del 15 y 19 de Noviembre del 2009, podamos mostrar importantes avances en este sentido.

Eduardo Atalah S.
Presidente SLAN

Pigmentos carotenoides: consideraciones estructurales y fisicoquímicas

Antonio J. Meléndez-Martínez, Isabel M. Vicario, Francisco J. Heredia

Laboratorio de Color y Calidad de Alimentos. Facultad de Farmacia. Universidad de Sevilla. 41012 Sevilla, España

RESUMEN. Los pigmentos carotenoides constituyen un grupo de compuestos ubicuos en la naturaleza que realizan una serie de funciones que los hacen especiales. Así, son considerados compuestos indispensables para la vida, fundamentalmente debido a las diferentes funciones que llevan a cabo en relación con la fotosíntesis tal y como se conoce hoy en día. Durante muchos años, la importancia nutricional de los carotenoides se debió a que algunos de ellos poseen actividad provitamina A, si bien el que el interés por estos isoprenoides se haya multiplicado en los últimos años se ha debido a una gran variedad de estudios que parecen indicar que actúan como antioxidantes y que podrían ser beneficiosos para la prevención de diversas enfermedades crónicas humanas no transmisibles, si bien existe todavía cierta controversia al respecto. En cualquier caso, las funciones y efectos debidos a estos pigmentos se deben a sus propiedades fisico-químicas y que éstas a su vez son consecuencia de su estructura química. Debido a las variadas acciones beneficiosas de las que son responsables, y sobre todo a su importancia nutricional, el objetivo fundamental de esta revisión es la descripción de dichas características, cuyo conocimiento es indispensable para tener una visión global de los diferentes roles que desempeñan y para el diseño de nuevos estudios.

Palabras clave: Carotenoides, estructura química, espectroscopia, espectrofotometría, pigmentos, propiedades fisicoquímicas.

INTRODUCCION

Los carotenoides son compuestos ubicuos en la naturaleza, cuya presencia en diversas estructuras de plantas y en gran variedad de animales, algas, hongos y bacterias se ha descrito desde hace décadas (1-4). Estos pigmentos no sólo son responsables del color de flores (colza, caléndula, diente de león, crisantemo, etc.) (5-7) y frutos (tomates, naranjas, pimientos, albaricoque, melocotón, etc.) (8-12) para favorecer la polinización y dispersión de semillas, o de estructuras animales como las plumas y picos de algunos pájaros (13,14), el exoesqueleto de crustáceos (15) y el músculo o la piel de algunos peces (16, 17) para otros fines, en algunos casos no muy claros (3,4), sino que realizan otras funciones que los hacen pigmentos especiales. Así, son considerados compuestos indispensables para la vida, fundamentalmente debido a las funciones que llevan a cabo en relación con la fotosíntesis (captación de luz, fotoprotección, disipación de excesos de

SUMMARY. Carotenoid pigments: structural and physicochemical considerations. Carotenoid are ubiquitous compounds serving a series of functions that make them special. Thus, they are regarded as essential compounds for life mainly due to the different roles they perform in photosynthesis as we currently know it. For many years, the nutritional relevance of carotenoids was due to some of them exhibiting vitamin A activity, although the interest in these pigments has expanded dramatically in the last years owing to a large variety of surveys that seem to indicate that they are antioxidant and may be beneficial for the prevention of several chronic non-transmissible human diseases, albeit there is some controversy in this regard. In any case, it is clear that the different functions and effects attributed to these isoprenoids stem from their physical and chemical properties, the latter being due to their chemical structure. Due to the diverse beneficial actions carotenoids are responsible for and, above all, to their nutritional importance, the main objective of this review is to describe such features, whose knowledge is indispensable to have a holistic view of the different roles they play and for the design of new studies.

Key words: Carotenoids, chemical structure, spectroscopy, spectrophotometry, pigments, physicochemical properties.

energía, desactivación de oxígeno singlete, etc.), hasta el punto de que sin ellos, la fotosíntesis, tal y como se conoce hoy en día, sería inviable (18-20). Así, se ha demostrado ampliamente que como consecuencia de la inhibición de la enzima fitoenol sintasa con herbicidas se producen fenómenos de fotooxidación que conducen a la destrucción de las moléculas de clorofila (21,22).

Durante años, la importancia nutricional de los carotenoides se debió sobre todo al hecho de que algunos poseen actividad provitamina A, la cual sigue siendo objeto de estudio en la actualidad (23,24-33). No obstante, el que el interés por estos compuestos isoprenoides se haya multiplicado no solo en Latinoamérica (34-37), sino a nivel mundial (38,39), se ha debido a estudios en los que se concluye que son compuestos antioxidantes (40-42) y beneficiosos para la prevención de diversas enfermedades, como ciertos tipos de cáncer (43-45), trastornos oculares (46,47) y vasculares (48,49), etc, si bien existe aún cierta controversia al respecto

(50,51). Así, el interés actual en los pigmentos carotenoides desde un punto de vista nutricional es claro, tal que los artículos de revisión en los que se discute las propiedades antioxidantes y beneficiosas para la salud de los humanos son numerosos (52-55), así como aquellos que tratan sobre la biodisponibilidad de los mismos (56-58).

En relación con todo ello, resulta claro afirmar que las funciones y efectos de estos pigmentos se deben a sus propiedades físicas y químicas, las cuales son consecuencia de su estructura química. Debido a las acciones beneficiosas de las que son responsables, y sobre todo a su creciente importancia en el campo de la Nutrición, el objetivo de esta revisión es la descripción de dichas características.

Estructura química

Como ocurre con cualquier compuesto químico, las funciones de los carotenoides son debidas en última instancia a su estructura química. En el caso particular de estos isoprenoides, la característica estructural más llamativa es el sistema de d.e.c. (d.e.c.) característico de sus moléculas, que es el principal responsable de su espectro de absorción, reactividad, forma, localización en estructuras subcelulares y de su papel en procesos de transferencia de energía (18). Así, el número de d.e.c. no sólo afecta a sus propiedades de absorción de luz y por tanto a su color (59,60), sino también a su reactividad frente a radicales (61,62), a la forma de la molécula (63) y a su efectividad en los procesos de transferencia de energía dentro del aparato fotosintético (64, 65).

Químicamente la mayoría de los carotenoides son tetraterpenoides, compuestos de 40 átomos de carbono formados por ocho unidades isoprenoides unidas de forma que la secuencia se invierte en el centro de la molécula. Es decir, la unión de dichas unidades es "cabeza-cola", excepto en el centro de la molécula, donde es "cabeza-cabeza". Debido a ello, los dos grupos metilo centrales de la cadena poliénica están separados por seis átomos de carbono, mientras que el resto están separados por cinco. Algunos carotenoides son acíclicos, si bien la mayoría contienen anillos a uno o ambos extremos de la molécula. Considerando los elementos químicos presentes en sus moléculas, los carotenoides pueden dividirse en dos grandes grupos: carotenos, que son hidrocarburos, y xantófilas, que contienen átomos de oxígeno. Éste puede estar presente en forma de grupo hidroxilo (zeinoxantina, lactucaxantina, etc.), metoxilo (esferoidenona, espiriloxantina, etc.), epóxido (anteraxantina, licopeno-1,2-epóxido, etc.), carbonilo (capsantina, esferoidenona, etc.) o carboxilo (norbixina, neurosporaxantina, etc.), principalmente (66,67). Otros grupos oxigenados presentes en carotenoides son acetatos (fucoxantina, dinoxantina, etc.), lactonas (peridinina, uríolido, etc.) y sulfatos (caloxantina-3-sulfato, nostoxantina-3-sulfato, etc.) (63,68-70).

Las xantófilas hidroxílicas pueden existir en la naturaleza en estado libre o esterificadas con ácidos grasos (palmítico, linoleico, linolénico, esteárico, mirístico, láurico, oleico, etc.) en pimientos y derivados, patatas, mango, cítricos, etc (71-75). Precisamente, la esterificación de carotenoides está suscitando gran interés recientemente, concretamente en relación a la biodisponibilidad de los pigmentos (76,77), a su efecto en las reacciones de los carotenoides con radicales libres (78) y a su papel durante la maduración de frutos (79). Existen asimismo glucósidos (crocina, zeaxantina monoramnósido, etc.) y glucosil ésteres de xantófilas (crocetina monoglucosil éster, glucosil éster del ácido diapolicopendioico, etc.), los cuales se han descrito en estigmas de azafrán, frutos de gardenia, bacterias, etc. (63,69,70, 80-82). Los carotenoides pueden encontrarse además formando complejos hidrosolubles estables con proteínas, lipoproteínas o glucoproteínas sobre todo en animales invertebrados acuáticos como gambas, langostas y cangrejos, entre muchos otros (3,15, 83).

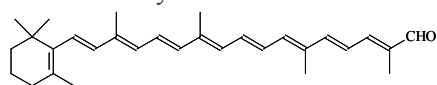
No todos los carotenoides constan de ocho unidades isoprenoides, ya que algunos, denominados apocarotenoides, poseen un esqueleto de menos de 40 átomos de carbono, debido probablemente a escisiones en uno (por ejemplo el β -apo-8'-carotenal, pigmento presente en el níspero (84) y en cítricos (85), entre otras fuentes) o ambos extremos de la molécula (como por ejemplo la crocetina, pigmento característico del azafrán (86)) (Figura 1). Otros apocarotenoides han sido identificados en diversas fuentes, como las semillas de *Bixa orellana* (87), el pimiento (88), flores de *Boronia megastigma* (89), etc. Otros carotenoides con un número de átomos de carbono diferente de 40 son los norcarotenoides, como la peridinina, en los que uno, dos o tres átomos de carbono han sido eliminados del esqueleto hidrocarbonado, o los secocarotenoides (como la β -carotenoína) en los que se ha roto un enlace entre carbonos adyacentes (excepto los carbonos 1 y 6 de anillos). Otros carotenoides poseen 45 o 50 átomos de carbono, y se forman por la adición de unidades isoprenoides a los grupos terminales, como por ejemplo la decaprenoxantina. En cuanto a los retrocarotenoides (como la rodoxantina), la posición de los dobles enlaces a lo largo de la cadena poliénica está invertida, de forma que los carbonos 15 y 15' están unidos por un enlace simple (Figura 1) (63,70, 90, 91).

Debido a la presencia del sistema de d.e.c., podrían existir, en teoría, muchos isómeros geométricos de cada carotenoide, si bien, debido a impedimentos estéricos, sólo algunos son estables (18,63,92). La mayoría de los carotenoides naturales son isómeros todo-trans (todo-E), aunque también existen isómeros cis (isómeros Z) en fuentes naturales, como es el caso de la bixina, presente como (9'Z)-bixina en la semilla de *Bixa orellana* (93), y del fitoeno, presente comúnmente como (15Z)-fitoeno en productos vegeta-

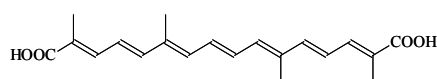
les y microorganismos (94,95), entre otros. El análisis por cromatografía líquida de isómeros geométricos de carotenoides se ha visto favorecido en los últimos años debido al desarrollo de columnas C_{30} , cuyo diseño las hace muy eficientes para su separación (96, 97). Así, diferentes isómeros de carotenoides han sido objeto de estudio en una gran variedad de fuentes, como vegetales (98), zumo de zanahorias y bebidas enriquecidas en vitaminas (99), mango (100), zumo de naranja (101, 102), flores (6, 103), etc. El estudio de isómeros geométricos de carotenoides resulta especialmente interesante debido a que parece que presentan distintas actividades o reactividad frente a diversos agentes y que podrían absorberse en diferente medida (104, 105). No obstante, debe tenerse en cuenta que los isómeros cis pueden ser en ocasiones artefactos, producidos durante la manipulación de las muestras o debido a tratamientos tecnológicos o culinarios (106, 107). Por otra parte, muchos carotenoides naturales poseen centros quirales, por lo que pueden existir diversos isómeros ópticos de cada uno de ellos, como es el caso de la zeaxantina (Figura 2), capsantina, aloxantina, neoxantina y muchísimos otros (2, 63, 70).

FIGURA 1

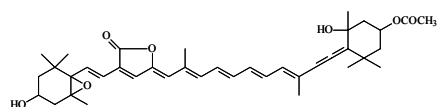
Estructuras químicas de β -apo-8'-carotenal, crocetina, peridinina, decaprenoxantina, semi- β -carotenona y rodoxantina



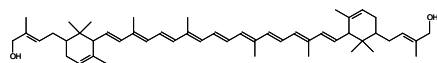
β -apo-8'-carotenal



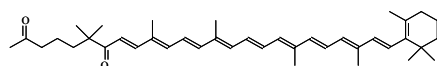
crocetina



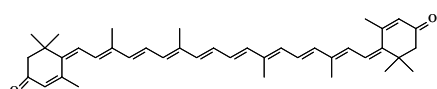
peridinina



decaprenoxantina



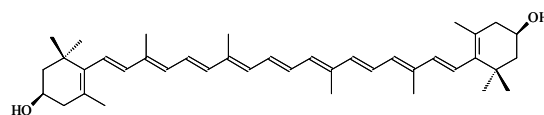
semi- β -carotenona



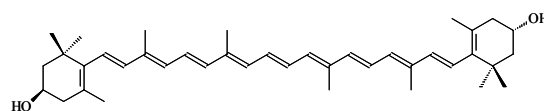
rodoxantina

FIGURA 2

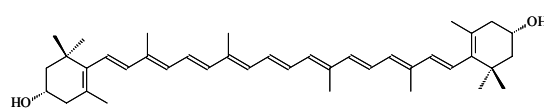
Configuraciones de la zeaxantina



(3R-3'R)-zeaxantina



Meso-zeaxantina ((3R-3'S)-zeaxantina)



(3S-3'S)-zeaxantina

Nomenclatura

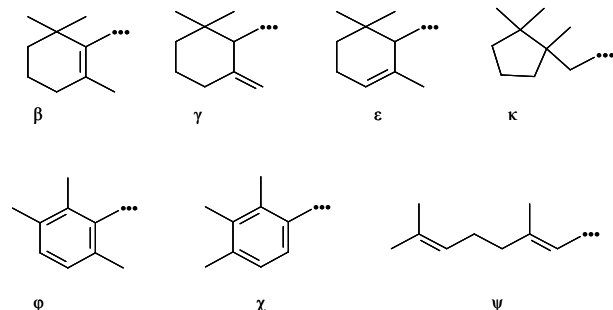
Tradicionalmente, los carotenoides se nombraron en función de la fuente de la que se aislaron por primera vez. Así, el término caroteno proviene del nombre científico de la zanahoria (*Daucus carota* L.), mientras que los pigmentos aislados del pensamiento (*Viola tricolor* L.) y algunas algas del género *Fucus* se denominaron violaxantina y fucoxantina, respectivamente. En la actualidad también se usa una nomenclatura semi-sistemática que proporciona información estructural (Tabla 1). Así, se consideran las dos mitades de la molécula del carotenoide, y el compuesto se nombra como derivado del caroteno correspondiente, especificándose los grupos terminales mediante letras griegas (Figura 3). Los cambios en el nivel de hidrogenación y la presencia de sustituyentes se indican mediante el empleo de prefijos y sufijos.

TABLA 1

Nombres semi-sistemáticos de diversos carotenoides

Nombre genérico	Nombre semi-sistemático
β -Caroteno	β , β -caroteno
Licopeno	ψ , ψ -caroteno
Fitoeno	7,8,11,12,7',8',11',12'-octahidro- ψ , ψ -caroteno
β -Criptoxantina	β , β -caroten-3-ol
Violaxantina	5,6,5',6'-diepoxi-5,6,5',6'-tetrahidro- β , β -caroteno-3,3'-diol
Neoxantina	5',6'-epoxi-6,7-didehidro-5,6,5',6'-tetrahidro- β , β -caroteno-3,5,3'-triol
Capsantina	3,3'-dihidroxi- β -caroten-6'-ona
Crocetina	8,8'-diapocaroteno-8,8'-ácido dioico

FIGURA 3
Grupos terminales presentes en las moléculas
de los pigmentos carotenoides



Propiedades físico-químicas

Los carotenoides son compuestos lipídicos, aunque existen algunas excepciones, por lo que son insolubles en agua y solubles en disolventes orgánicos como acetona, metanol, éter dietílico, hexano, cloroformo y piridina, entre muchos otros. Debido a su carácter hidrofóbico se encuentran normalmente en ambientes lipófilos, como en membranas, si bien su asociación con proteínas o reacciones de glicosilación les permiten también estar presentes en medios acuosos (4,18). En relación con el papel de los pigmentos carotenoides en membranas de distinta naturaleza (41,108), cabe señalar que los carotenos permanecen en el interior de las mismas, mientras que las xantófilas pueden encontrarse en otras localizaciones en las que interactúan a través de sus grupos hidroxílicos con moléculas de fosfolípidos (18). La asociación con proteínas permite además a los carotenoides permanecer en una posición correcta con respecto a otras moléculas, siendo ejemplos claros de este hecho los complejos pigmento-proteína que mantienen a carotenoides y clorofilas en posiciones adecuadas para los procesos de transferencia de energía que tienen lugar durante la fotosíntesis (109, 110).

Los carotenoides ácidos pueden formar sales sódicas o potásicas solubles en agua por tratamiento con álcali, como es el caso de bixina, astaceno o mitiloxantina (66,111). Las carotenoproteínas son también solubles en agua y muy estables (4). El color de estos complejos es estable durante años a temperatura ambiente y en contacto con el aire, por lo que tienen un gran interés como posibles colorantes (83). El carácter hidrofóbico de la mayoría de los carotenoides hace que tiendan a la agregación y cristalización en medio acuoso (18), siendo un ejemplo típico los cristales de licopeno en los cromoplastos de los tomates (112,113). Los puntos de fusión son elevados, generalmente comprendidos en el rango 130-220°C y la solubilidad de los cristales generalmente pequeña, siendo mejor en disolventes orgánicos clorados y en benceno (66,111).

El sistema de d.e.c. de las moléculas de carotenoides es

responsable de su intenso color. Para que estos pigmentos tengan una coloración perceptible son necesarios al menos siete d.e.c.. Así, el α -caroteno (7 d.e.c.) es amarillo pálido, mientras que fitoeno (3 d.e.c.) y fitoflueno (5 d.e.c.), son incoloros (60). El color se debe concretamente a la oscilación de los electrones a lo largo de la cadena hidrocarbonada insaturada. La absorción de luz produce el paso de la molécula de su estado energético basal a otro de mayor energía llamado estado excitado. En el caso de los carotenoides, la transición electrónica se produce de orbitales π enlazantes a orbitales π^* antienlazantes. Como consecuencia de la deslocalización de los electrones a lo largo de la cadena hidrocarbonada, debido a la presencia de numerosos d.e.c. en ésta, la molécula en estado excitado no posee un alto contenido energético, de ahí que la energía de la radiación visible sea normalmente suficiente para que se produzca el salto electrónico (59). La asociación de carotenoides con proteínas estabiliza a los pigmentos además de extender el rango de colores a verde, azul y púrpura. Así, el máximo de absorción de astaxantina en acetona es 478 nm, mientras que el de la α -crustacianina es 632 nm, de ahí su coloración azulada (114). Analíticamente, el color de los carotenoides es de gran importancia, ya que un cambio de color durante el análisis es indicativo de degradación o de modificación estructural de los pigmentos. De igual forma, el color permite monitorizar su separación mediante cromatografía en columna y en capa fina (111,115).

En los últimos años, han aparecido estudios en los que se propone la medida objetiva del color como una potente herramienta en el ámbito del control de calidad para la estimación rápida del contenido en carotenoides en diversas fuentes, como tomates (8), zumo de naranja (9) y albaricoques (11), fundamentalmente debido a las ventajas que ofrecen tales medidas, como rapidez, no destrucción de las muestras, versatilidad, etc. Así, la medida objetiva del color se ha propuesto recientemente como un método apropiado para la determinación de la actividad vitamínica A de zumos de naranja de una forma más eficiente, rápida y realista en el ámbito del control de calidad (25). Aparte de estos estudios en los que el color se ha correlacionado de algún modo con el contenido en carotenoides, existen otros muchos en los que el contenido de estos pigmentos y el color de diferentes muestras se ha analizado paralelamente (116,117). En este sentido debe también tenerse en cuenta que diversas técnicas espectroscópicas se usan, aunque sin obtener parámetros cromáticos, para el análisis de estos compuestos (118,119).

El espectro de absorción UV-Vis de los carotenoides es de interés para aclarar su estructura. Normalmente aparecen tres máximos cuyas longitudes de onda (λ) dependen del número de d.e.c. y del disolvente empleado para la medida (59,111), si bien el máximo de absorción ($\epsilon_{\text{máx}}$) de los carotenoides *in vivo* aparece a longitudes de onda unos

10 nm mayores en comparación con los máximos en hexano o etanol, debido a su presencia en un ambiente proteico o lipídico (4). Independientemente del disolvente, las $\epsilon_{\text{máx}}$ aumentan con la longitud del cromóforo (59), de forma que los dobles enlaces no conjugados no afectan significativamente al espectro. No obstante, cuando existen d.e.c. en un anillo, debido a que éste no es coplanar con la cadena poliénica lineal, las $\epsilon_{\text{máx}}$ aparecen a longitudes de onda menores en comparación con los carotenoides no cíclicos con el mismo número de d.e.c. (120). Los grupos carbonílicos conjugados con la cadena poliénica también aumentan la longitud del cromóforo. Así, la presencia de uno de estos grupos en un anillo hace que los máximos se localicen a ϵ aproximadamente 10 nm superiores, mientras que su presencia en la cadena poliénica hace que se desplacen a longitudes de onda en torno a 30 nm superiores (115,121). Los grupos hidroxilo y metoxilo, sin embargo, no afectan al cromóforo, de ahí que los espectros del $\hat{\alpha}$ -caroteno y sus hidroxiderivados $\hat{\alpha}$ -criptoxantina y zeaxantina sean prácticamente idénticos. Por otra parte, la forma del espectro y la persistencia de las bandas de absorción, lo que comúnmente se conoce como estructura fina, reflejan el grado de planaridad del cromóforo. El sistema de d.e.c. de los carotenoides acíclicos puede adoptar una conformación casi planar, de ahí que sus espectros presenten máximos y mínimos perfectamente definidos, aunque la persistencia de las bandas disminuye cuando existen más de nueve d.e.c.. El espectro de los carotenoides cíclicos en los que el cromóforo no se extiende a los anillos presenta también bandas de absorción persistentes (120), aunque cuando la conjugación se extiende a anillos existen impedimentos estéricos entre el grupo metilo en el carbono 5 del anillo y el átomo de hidrógeno del carbono 8 de la cadena poliénica, que hacen que los dobles enlaces de los anillos no sean coplanares con los de la cadena poliénica. Como consecuencia se produce un desplazamiento hipsocrómico (a ϵ menores) de las $\epsilon_{\text{máx}}$, un efecto hipocrómico (disminución de la absorción) y una pérdida de estructura fina (115,120). Así, la primera banda de absorción de carotenoides con dos anillos $\hat{\alpha}$, como $\hat{\alpha}$ -caroteno, $\hat{\alpha}$ -criptoxantina y zeaxantina, se reduce a una mera inflexión (67). Cuando existen grupos carbonilos conjugados con la cadena poliénica, se produce un desplazamiento batocrómico (a ϵ mayores) de los máximos, además de una pérdida de estructura fina, de forma que el espectro de estos compuestos, como astaxantina, cantaxantina o capsorrubina, entre otros, se reduce a una curva simétrica o a una banda principal con inflexiones a uno y otro lado (59,67,115). El espectro de isómeros *Z* o *cis* presenta algunas peculiaridades con respecto a los de isómeros *todo-E* o *todo-trans*. Así, el máximo de absorción se localiza a ϵ entre 2 y 6 nm menores en el caso de isómeros *mono-cis*, la estructura fina disminuye y una nueva banda de absorción aparece en la región ultravioleta (59,92,115).

Los carotenoides en disolución, obedecen la ley de Lambert-Beer, de ahí que se cuantifiquen espectrofotométricamente, relacionando la absorbancia a una determinada ϵ con un valor estándar expresado como coeficiente de absorción, ya sea el coeficiente de absorción específico, ($A_{1\text{cm}}^{1\%}$), que se define como la absorbancia teórica de una disolución de concentración 1% (P/V) en una cubeta de 1 cm de paso de luz, o el coeficiente de absorción molar, $\hat{\alpha}$, definido como la absorbancia teórica de una disolución de concentración 1 molar. Ambos coeficientes están relacionados por la fórmula $\hat{\alpha} = (A_{1\text{cm}}^{1\%} \times \text{peso molecular})/10$ (70). Teóricamente, $\hat{\alpha}$ es característico del cromóforo e independiente del peso molecular del carotenoide, por lo que podría ser considerado el mismo para carotenoides distintos con idéntico cromóforo, como por ejemplo $\hat{\alpha}$ -caroteno y zeaxantina. En cambio, los valores de $A_{1\text{cm}}^{1\%}$ no serían los mismos para ambos compuestos, si bien están relacionados por sus pesos moleculares:

$$A_{1\text{cm}}^{1\%} (\text{zeaxantina}) = A_{1\text{cm}}^{1\%} (\hat{\alpha}\text{-caroteno}) \times (536/568)$$

La exactitud de la cuantificación de los carotenoides depende, por tanto, de la de los coeficientes de absorción. Para la determinación de estos coeficientes se recomienda pesar con precisión entre 1 y 2 mg del pigmento puro y disolverlos completamente en un disolvente apropiado (59). Este procedimiento suele ser bastante complicado, sobre todo si los carotenoides están cristalizados, por lo que el contenido en carotenoides es frecuentemente subestimado (66). La determinación cuantitativa de los pigmentos carotenoides, implica por tanto una cierta inexactitud. En relación con este hecho, cabe señalar que los coeficientes de absorción de los isómeros *cis* son sensiblemente menores que los de los correspondientes isómeros *todo-trans*, si bien pocos han sido determinados experimentalmente (70), por lo que la cuantificación de los isómeros *cis* con los valores tabulados para los isómeros *todo-trans* implica aún un mayor grado de inexactitud. En la literatura existen tablas en las que se indican los valores de los coeficientes de absorción, generalmente el específico, para distintos carotenoides en varios disolventes, especificándose asimismo la ϵ a la que debe llevarse a cabo la medida de absorbancia (59,67,122,123). No obstante, debido a las dificultades inherentes a la determinación experimental de los coeficientes de absorción, existen discrepancias en algunos de los valores de tabulados (66,115). Para calcular la concentración de un determinado carotenoide se aplica la fórmula $x = Ay / (A_{1\text{cm}}^{1\%} \times 100)$ (120), donde x es el peso del carotenoide en gramos, y es el volumen de la disolución en mililitros, A la absorbancia medida experimentalmente y $A_{1\text{cm}}^{1\%}$ el coeficiente de absorción específico. Cuando no se ha determinado el coeficiente de absorción específico para un carotenoide o bien se pretende estimar el contenido total de carotenoides de un extracto, se suele usar un valor arbitrario de 2500 (121).

REFERENCIAS

1. Karrer P, Jucket E. Carotenoids. Basel, Switzerland: Birkhäuser; 1948.
2. Goodwin TW. The biochemistry of the carotenoids. Volume I. Plants. London, United Kingdom: Chapman and Hall; 1980.
3. Goodwin TW. The biochemistry of the carotenoids. Volume II. Animals. London, United Kingdom: Chapman and Hall; 1984.
4. Britton G. The biochemistry of natural pigments. Cambridge, United Kingdom: Cambridge University Press; 1983.
5. Kull D, Pfander H. Isolation and identification of carotenoids from the petals of rape (*Brassica napus*). J Agric Food Chem 1995; 43: 2854-2857.
6. Meléndez-Martínez AJ, Britton G, Vicario IM, Heredia FJ. HPLC analysis of geometrical isomers of lutein epoxide isolated from dandelion (*Taraxacum officinale* F. Weber ex Wiggers). Phytochem 2006; 67: 771-777.
7. Kishimoto S, Maoka T, Nakayama M, Ohmiya A. Carotenoid composition in petals of chrysanthemum (*Dendranthema grandiflorum* (Ramat.) Kitamura). Phytochem 2004; 65: 2781-2787.
8. Arias R, Lee T-C, Logendra L, Janes H. Correlation of lycopene measured by HPLC with the L^* , a^* , b^* color readings of a hydroponic tomato and the relationship of maturity with color and lycopene content. J Agric Food Chem 2000; 48: 1697-1702.
9. Meléndez-Martínez AJ, Vicario IM, Heredia FJ. Application of Tristimulus Colorimetry to estimate the carotenoids content in ultrafrozen orange juices. J Agric Food Chem 2003; 51(25): 7266-7270.
10. Hornero-Méndez D, Gómez-Ladrón de Guevara R, Mínguez-Mosquera MI. Carotenoid biosynthesis changes in five red pepper (*Capsicum annum* L.) cultivars during ripening. Cultivar selection for breeding. J Agric Food Chem 2000; 48: 3857-3864.
11. Ruíz D, Egea J, Tomás-Barberán FA, Gil MI. Carotenoids from new apricot (*Prunus armeniaca* L.) varieties and their relationship with flesh and skin color. J Agric Food Chem 2005; 53: 6368-6374.
12. Gil MI, Tomás-Barberán FA, Hess-Pierce B, Kader AA. Antioxidant capacities, phenolic compounds, carotenoids, and vitamin C contents of nectarine, peach, and plum cultivars from California. J Agric Food Chem 2002; 50: 4976-4982.
13. Blanco G, Frías O, Garrido-Fernández J, Hornero-Méndez D. Environmental-induced acquisition of nuptial plumage expression: a role of denaturation of feather carotenoproteins? Proceedings of the Royal Society B Biological Sciences 2005; 272(1575): 1893-1900.
14. Negro JJ, Grande JM, Tella JL, Garrido J, Hornero D, Donázar JA, Sánchez-Zapata JA, Benítez JR, Barcell M. An unusual source of essential carotenoids. A yellow-faced vulture includes unguilate faeces in its diet for cosmetic purposes. Nature 2002; 416: 807-808.
15. Cremades O, Parrado J, Alvarez-Ossorio M-C, Jover M, Collantes de Terán L, Gutierrez JF, Bautista J. Isolation and characterization of carotenoproteins from crayfish (*Procambarus clarkii*). Food Chem 2003; 82(4): 559-566.
16. Ronsholdt B, McLean E. Determination of total carotenoid content in rainbow trout muscle by multivariate calibration of VIS reflectance spectra. J Food Compos Anal 2001; 14: 345-357.
17. Yanar Y, Büyükcapar H, Yanar M, Göcer M. Effect of carotenoids from red pepper and marigold flower on pigmentation, sensory properties and fatty acid composition of rainbow trout. Food Chem 2007; 100: 326-330.
18. Britton G. Structure and properties of carotenoids in relation to function. FASEB J 1995; 9: 1551-1558.
19. Demmig-Adams B, Gilmore AM, Adams III WW. In vivo functions of carotenoids in higher plants. FASEB J 1996; 10: 403-412.
20. Frank HA, Chynwat V, Desamero RZB, Farhoosh R, Erickson J, Bautista J. On the photophysics and photochemical properties of carotenoids and their role as light-harvesting pigments in photosynthesis. Pure Appl Chem 1997; 69(10): 2177-2124.
21. Grumbach KH, Britton G. Distribution of carotenoids in sub-cellular and sub-plastidic fractions of radish seedlings (*Raphanus sativus*) grown in the presence of bleaching pesticides. Phytochem 1983; 22(9): 1937-1940.
22. Sandmann G, Mitchell G. In vitro inhibition studies of phytoene desaturase by bleaching ketomorpholine derivatives. J Agric Food Chem 2001; 49: 139-141.
23. Nyambaka H, Ryley J. An isocratic reversed-phase HPLC separation of the stereoisomers of the provitamin A carotenoids (a- and b-carotene) in dark green vegetables. Food Chem 2004; 55(1): 63-72.
24. Meléndez-Martínez AJ, Vicario IM, Heredia FJ. Provitamin A carotenoids and ascorbic acid contents of the different types of orange juices marketed in Spain. Food Chem 2007; 101: 177-184.
25. Meléndez-Martínez AJ, Vicario IM, Heredia FJ. Rapid assessment of vitamin A activity through objective color measurements for the quality control of orange juices with diverse carotenoid profiles. J Agric Food Chem 2007; 55(8): 2808-2815.
26. González E, Montenegro MA, Nazareno MA, López de Mishima BA. Carotenoid composition and vitamin A value of an Argentinian squash (*Cucurbita moschata*). Arch Latinoam Nutr 2001; 51(4): 395-399.
27. Raju M, Varakumar S, Lakshminarayana R, Krishnakantha TP, Baskaran V. Carotenoid composition and vitamin A activity of medicinally important green leafy vegetables. Food Chem 2007; 101: 1621-1628.
28. Pinheiro Sant'Ana HM, Stringheta PC, Cardoso Brandao SC, Monteiro Cordeiro de Azeredo R. Carotenoid retention and vitamin A value in carrot (*Daucus carota* L.) prepared by food service. Food Chem 1998; 61(1/2): 145-151.
29. Sánchez-Moreno C, Plaza L, De Ancos B, Cano MP. Vitamin C, provitamin A carotenoids, and other carotenoids in high-pressure orange juice during refrigerated storage. J Agric Food Chem 2003; 51: 647-653.
30. Burri BJ, Clifford AJ. Carotenoid and retinoid metabolism: insights from isotope studies. Arch Biochem Biophys 2004; 430: 110-119.
31. de Carvalho Rondó PH, Villar BS, Tomkins AM. Vitamin A status of pregnant women assessed by a biochemical indicator

- and a simplified food frequency questionnaire. *Arch Latinoam Nutr* 1999; 49(4): 322-325.
32. Römer S, Fraser PD, Kiano JW, Shipton CA, Misawa N, Schuch W, Bramley PM. Elevation of the provitamin A content of transgenic tomato plants. *Nat Biotechnol* 2000; 18: 666-669.
 33. Beyer P, Al-Babili S, Ye X, Lucca P, Schaub P, Welsch R, Potrykus I. Golden Rice: introducing the b-carotene biosynthesis pathway into rice endosperm by genetic engineering to defeat vitamin A deficiency. *J Nutr* 2002; 132: 506S-510S.
 34. Amaya-Farfán J. Panorama de la investigación sobre carotenoides en el Brasil. *Perspectiva y necesidades. Arch Latinoam Nutr* 1999; 49(1-S): 92-97.
 35. Chávez Pérez JF. Prioridades de investigaciones en el campo de carotenoides en Venezuela. *Arch Latinoam Nutr* 1999; 49(1-S): 103-107.
 36. López de Mishima B, Closa SJ, Samman N, de Portela MLPM. Necesidades de investigación sobre carotenoides en la República Argentina. *Arch Latinoam Nutr* 1999; 49(1-S): 98-102.
 37. Muñoz de Chávez M, Chávez A, Calvo C. Necesidades de investigación en carotenoides en América Latina. *Arch Latinoam Nutr* 1999; 49(1-S): 85-88.
 38. O'Neill ME, Carroll Y, Olmedilla B, Granado F, Blanco I, Van den Berg H, Hininger I, Rousell AM, Chopra M, Southon S, Thurnham DI. A European carotenoid database to assess carotenoid intakes and its use in a five-country comparative study. *Br J Nutr* 2001; 85: 499-507.
 39. Dixon LB, Zimmerman TP, Kahle LL, Subar AF. Adding carotenoids to the NCI Diet History Questionnaire Database. *J Food Compos Anal* 2003; 16: 269-280.
 40. Yamaguchi LF, Martinez GR, Catalani LH, Medeiros MHG, Di Mascio P. Lycopene entrapped in human albumin protects 2'-deoxyguanosine against singlet oxygen damage. *Arch Latinoam Nutr* 1999; 49(1-S): 12-20.
 41. Böhm F, Tinkler JH, Truscott TG. Carotenoids protect against cell membrane damage by the nitrogen dioxide radical. *Nature Med* 1995; 1: 98-99.
 42. Naguib YMA. Antioxidant activities of astaxanthin and related carotenoids. *J Agric Food Chem* 2000; 48: 1150-1154.
 43. Maoka T, Mochida K, Kozuka M, Ito Y, Fujiwara Y, Hashimoto K, Enjo F, Ogata M, Nobukuni Y, Tokuda H, Nishino H. Cancer chemopreventive activity of carotenoids in the fruits of red paprika *Capsicum annum* L. *Cancer Lett* 2001; 172: 103-109.
 44. Russell RM. Beta-carotene and lung cancer. *Pure & Applied Chemistry* 2002; 74(8): 1461-1467.
 45. Slattery M, Benson J, Curtin K, Ma K-N, Schaeffer D, Potter JD. Carotenoids and colon cancer. *Am J Clin Nutr* 2000; 71: 575-582.
 46. Snodderly DM. Evidence for protection against age-related macular degeneration by carotenoids and antioxidant vitamins. *Am J Clin Nutr* 1995; 62: 1448S-61S.
 47. Trumbo PR, Ellwood KC. Lutein and zeaxanthin intakes and risk of age-related macular degeneration and cataracts: an evaluation using the Food and Drug Administration's evidence-based review system for health claims. *Am J Clin Nutr* 2006; 84: 971-974.
 48. Tavani A, La Vecchia C. b-carotene and risk of coronary heart disease. A review of observational and intervention studies. *Biomed & Pharmacother* 1999; 53: 409-416.
 49. Rao AV. Lycopene, tomatoes, and the prevention of coronary heart disease. *Exp Biol Med* 2002; 227: 908-913.
 50. Palozza P. Prooxidant actions of carotenoids in biologic systems. *Nutr Rev* 1998; 56: 257-265.
 51. Paolini M, Abdel-Rahman SZ, Sapone A, Pedulli GF, Perocco P, Cantelli-Forti P, Legator MS. b-carotene: a cancer chemopreventive agent or a co-carcinogen? *Mutat Res* 2003; 543: 195-200.
 52. Krinsky NI. Carotenoids as antioxidants. *Nutrition* 2001; 17(10): 815-817.
 53. Stahl W, Sies H. Antioxidant activity of carotenoids. *Mol Aspects Med* 2003; 24: 345-351.
 54. Olson JA. Carotenoids and human health. *Arch Latinoam Nutr* 1999; 49(1-S): 7-11.
 55. Meléndez-Martínez AJ, Vicario IM, Heredia FJ. Importancia nutricional de los pigmentos carotenoides. *Arch Latinoam Nutr* 2004; 54(2): 149-154.
 56. Olson JA. Bioavailability of carotenoids. *Arch Latinoam Nutr* 1999; 49(1-S): 21-25.
 57. Borel P, Reboul E, Richelle M, Perrot E, Desmoulin-Malezet C, Pirisi V, Borel. Bioaccessibility of carotenoids and vitamin E from their main dietary sources. *J Agric Food Chem* 2006; 54: 8749-8755.
 58. Granado-Lorencio F, Olmedilla-Alonso B, Herrero-Barbudo MC, Blanco-Navarro I, Pérez-Sacristán B, Blázquez-García S. *In vitro* bioaccessibility of carotenoids and tocopherols from fruits and vegetables. *Food Chem* 2007; 102: 641-648.
 59. Britton G. UV/Visible Spectroscopy. En: Britton G, Liaen-Jensen S, Pfander H, editores. *Carotenoids. Volume 1B: Spectroscopy*. Basel, Switzerland: Birkhäuser; 1995. p. 13-62.
 60. Meléndez-Martínez AJ, Britton G, Vicario IM, Heredia FJ. Relationship between the colour and the chemical structure of carotenoid pigments. *Food Chem* 2007; 101: 1145-1150.
 61. Woodall AA, Lee SW, Weesie RJ, Jackson MJ, Britton G. Oxidation of carotenoids by free radicals: relationship between structure and reactivity. *Biochim Biophys Acta* 1997; 1336: 33-42.
 62. Woodall AA, Britton G, Jackson MJ. Carotenoids and protection of phospholipids in solution or in liposomes against oxidation by peroxy radicals: Relationship between carotenoid structure and protective ability. *Biochimica et Biophysica Acta* 1997; 1336: 575-586.
 63. Weedon BCL, Moss GP. Structure and nomenclature. En: Britton G, Liaen-Jensen S, Pfander H, editores. *Carotenoids. Volume 1A: Isolation and analysis*. Basel, Switzerland: Birkhäuser; 1995. p. 27-70.
 64. Cogdell RJ, Gillbro T, Andersson PO, Liu RSH, Asato AE. Carotenoids as accessory light-harvesting pigments. *Pure & Applied Chemistry* 1994; 66(5): 1041-1046.
 65. Young AJ, Phillip D, Ruban AV, Horton P, Frank HA. The xanthophyll cycle and carotenoid-mediated dissipation of excess excitation energy in photosynthesis. *Pure & Applied Chemistry* 1997; 69(10): 2125-2130.
 66. Britton G. Carotenoids. En: Hendry GAF, Houghton JD, editores. *Natural food colorants*. Glasgow and London: Blackie; 1992. p. 141-182.

67. Mínguez-Mosquera MI. Clorofilas y carotenoides en Tecnología de los Alimentos. Sevilla, Spain: Secretariado de publicaciones de la Universidad de Sevilla; 1997.
68. Mercadante AZ, Steck A, Pfander H. Isolation and structure elucidation of minor carotenoids from annatto (*Bixa orellana* L.) seeds. *Phytochem* 1997; 46(8): 1379-1383.
69. Mercadante AZ. New carotenoids: Recent progress. *Pure Appl Chem* 1999; 71(12): 2263-2272.
70. Britton G, Liaaen-Jensen S, Pfander H. Carotenoids. Handbook. Basel, Switzerland: Birkhäuser; 2004.
71. Breithaupt DE, Bamedi A. Carotenoid esters in vegetables and fruits: a screening with emphasis on b-cryptoxanthin esters. *J Agric Food Chem* 2001; 49(4): 2064-2070.
72. Ishida BK, Turner C, Chapman MH, McKeon TA. Fatty acid and carotenoid composition of gac (*Momordica cochinchinensis* Spreng) fruit. *J Agric Food Chem* 2004; 52: 274-279.
73. Breithaupt DE, Bamedi A. Carotenoids and carotenoid esters in potatoes (*Solanum tuberosum* L.): new insights into an ancient vegetable. *J Agric Food Chem* 2002; 50: 7175-7181.
74. Pott I, Breithaupt DE, Carle R. Detection of unusual carotenoid esters in fresh mango (*Mangifera indica* L. cv. 'Kent'). *Phytochem* 2003; 64: 825-829.
75. Philip T. The nature of carotenoid esterification in citrus fruits. *J Agric Food Chem* 1973; 21(6): 964-966.
76. Wingerath T, Stahl W, Sies H. b-Cryptoxanthin selectively increases in human chylomicrons upon ingestion of tangerine concentrate rich in b-Cryptoxanthin esters. *Arch Biochem Biophys* 1995; 324(2): 385-390.
77. Pinteá A, Diehl HA, Momeu C, Aberle L, Socaciu C. Incorporation of carotenoid esters into liposomes. *Biophys Chem* 2005; 118: 7-14.
78. Pérez-Gálvez A, Mínguez-Mosquera MI. Degradation of non-esterified and esterified xanthophylls by free radicals. *Biochimica et Biophysica Acta* 2002; 1569: 31-34.
79. Hornero-Méndez D, Mínguez-Mosquera MI. Xanthophyll esterification accompanying carotenoid overaccumulation in chromoplast of *Capsicum annuum* ripening fruits is a constitutive process and useful for ripeness index. *J Agric Food Chem* 2000; 48: 1617-1622.
80. Van Calsteren M-R, Bissonnette MC, Cornier F, Dufresne C, Ichi T, Yves LeBlanc JC, Perreault D, Roewer I. Spectroscopic characterization of crocetin derivatives from *Crocus sativus* and *Gardenia jasminoides*. *J Agric Food Chem* 1997; 45: 1055-1061.
81. Selim K, Tsimidou M, Biliaderis CG. Kinetic studies of degradation of saffron carotenoids encapsulated in amorphous polymer matrices. *Food Chem* 2000; 71: 199-206.
82. Pfister S, Meyer P, Steck A, Pfander H. Isolation and structure elucidation of carotenoid-glycosyl esters in gardenia fruits (*Gardenia jasminoides* Ellis) and Saffron (*Crocus sativus* Linne). *J Agric Food Chem* 1996; 44: 2612-2615.
83. Armenta-López R, Guerrero I, Huerta S. Astaxanthin extraction from shrimp waste by lactic fermentation and enzymatic hydrolysis of the carotenoprotein complex. *J Food Sci* 2004; 67(3): 1002-1006.
84. Gross J, Gabai M, Lifshitz A, Sklarz B. Carotenoids of *Riobotrya japonica*. *Phytochem* 1973; 12: 1775-1782.
85. Farin D, Ikan R, Gross J. The carotenoid pigments in the juice and flavedo of a mandarin hybrid (*Citrus reticulata*) cv Michal during ripening. *Phytochem* 1983; 22(2): 403-408.
86. Carmona M, Zalacain A, Sánchez AM, Novella JL, Alonso GL. Crocetin esters, picrocrocin and its related compounds present in *Crocus sativus* stigmas and *Gardenia jasminoides* fruits. Tentative identification of seven new compounds by LC-ESI-MS. *J Agric Food Chem* 2006; 54: 973-979.
87. Mercadante AZ, Steck A, Pfander H. Isolation and identification of new apocarotenoids from annatto (*Bixa orellana*) seeds. *J Agric Food Chem* 1997; 45: 1050-1054.
88. Maoka T, Fujiwara Y, Hashimoto K, Akimoto N. Isolation of a series of apocarotenoids from the fruits of the red paprika *Capsicum annuum* L. *J Agric Food Chem* 2001; 49: 1601-1606.
89. Cooper CM, Davies NW, Menary RC. C-27 apocarotenoids in the flowers of *Boronia megastigma* (Nees). *J Agric Food Chem* 2003; 51: 2384-2389.
90. Lóránd T, Molnár P, Deli J, Tóth G. FT-IR study of some seco- and apocarotenoids. *J Biochem Biophys Methods* 2002; 53: 251-258.
91. Wang F, Jiang JG, Chen Q. Progress on molecular breeding and metabolic engineering of biosynthesis pathways of C30, C35, C40, C45, C50 carotenoids. *Biotechnology Advances* 2007; 25: 211-222.
92. Zechmeister L. *Cis-trans* isomeric carotenoids, vitamins A and arylpolyenes. Vienna, Austria: Springer Verlag; 1962.
93. Mercadante AZ, Pfander H. Carotenoids from annatto: a review. *Recent Res Dev Agric Food Chem* 1998; 2: 79-91.
94. Khachik F, Beecher GR, Lusby WR. Separation, identification, and quantification of the major carotenoids in extracts of apricots, peaches, cantaloupe, and pink grapefruit by liquid chromatography. *J Agric Food Chem* 1989; 37: 1465-1473.
95. Britton G, Powls R. Phytoene, phytofluene and z-carotene isomers from a *Scenedesmus obliquus* mutant. *Phytochem* 1977; 16: 1253-1255.
96. Sander LC, Epler-Sharpless K, Craft NE, Wise SA. Development of engineered stationary phases for the separation of carotenoid isomers. *Anal Chem* 1994; 66: 1667-1674.
97. Emenhiser C, Simunovic N, Sander LC, Schwartz SJ. Separation of geometrical carotenoid isomers in biological extracts using a polymeric C30 column in reversed-phase liquid chromatography. *J Agric Food Chem* 1996; 44: 3887-3893.
98. Lessin WJ, Catignani GL, Schwartz SJ. Quantification of *cis-trans* isomers of provitamin A carotenoids in fresh and processed fruits and vegetables. *J Agric Food Chem* 1997; 45(10): 3728-3732.
99. Marx M, Schieber A, Carle R. Quantitative determination of carotene stereoisomers in carrot juices and vitamin supplemented (ATBC) drinks. *Food Chem* 2000; 70: 403-408.
100. Pott I, Marx M, Neidhart S, Mühlbauer W, Carle R. Quantitative determination of b-carotene stereoisomers in fresh, dried, and solar-dried mangoes (*Mangifera indica* L.). *J Agric Food Chem* 2003; 51: 4527-4531.
101. Meléndez-Martínez AJ, Britton G, Vicario IM, Heredia FJ. Identification of isolutein (lutein epoxide) as *cis*-antheraxanthin in orange juice. *J Agric Food Chem* 2005; 53(24): 9369-9373.

102. Meléndez-Martínez AJ, Vicario IM, Heredia FJ. Carotenoids, color and ascorbic acid content of a novel frozen-marketed orange juice. *J Agric Food Chem* 2007; 55(4): 1347-1355.
103. Leigh Hadden W, Watkins RH, Levy LW, Regalado E, Rivadeneira DM, Van Breemen RB, Schwartz SJ. Carotenoid composition of marigold (*Tagetes erecta*) flower extract used as nutritional supplement. *J Agric Food Chem* 1999; 47: 4189-4194.
104. Boileau TWM, Boileau AC, Erdman Jr. JW. Bioavailability of all-trans and cis-isomers of lycopene. *Exp Biol Med* 2002; 227: 914-919.
105. Böhm V, Puspitasari-Nienaber NL, Ferruzzi MG, Schwartz SJ. Trolox equivalent antioxidant capacity of different geometrical isomers of a-carotene, b-carotene, lycopene, and zeaxanthin. *J Agric Food Chem* 2002; 50: 221-226.
106. Meléndez-Martínez AJ, Vicario IM, Heredia FJ. Estabilidad de los pigmentos carotenoides en los alimentos. *Arch Latinoam Nutr* 2004; 54(2): 209-215.
107. Schieber A, Carle R. Occurrence of carotenoid cis-isomers in food: Technological, analytical and nutritional implications. *Trends in Food Science and Technology* 2005; 16: 416-422.
108. Socaciu C, Jessel R, Diehl HA. Carotenoid incorporation into microsomes: yields, stability and membrane dynamics. *Spectrochimica Acta Part A* 2000; 56: 2799-2809.
109. Frank H, Cogdell RJ. Photochemistry and function of carotenoids in photosynthesis. En: Young A, Britton G, editores. *Carotenoids in photosynthesis*. London: Chapman & Hall; 1993. p. 253-326.
110. Gruszecki WI, Grudzinski W, Banaszek-Glos A, Matula M, Kernen P, Krupa Z, Sielewiesiuk J. Xanthophyll pigments in light-harvesting complex II in monomolecular layers: localisation, energy transfer and orientation. *Biochimica et Biophysica Acta* 1999; 1412: 173-183.
111. Schiedt K, Liaaen-Jensen S. Isolation and analysis. En: Britton G, Liaaen-Jensen S, Pfander H, editores. *Carotenoids. Volume 1A: Isolation and analysis*. Basel, Switzerland: Birkhäuser; 1995. p. 81-108.
112. Nguyen M, Francis D, Schwartz S. Thermal isomerisation susceptibility of carotenoids in different tomato varieties. *J Sci Food Agric* 2001; 81: 910-917.
113. Seybold C, Fröhlich K, Bitsch R, Otto K, Böhm V. Changes in contents of carotenoids and vitamin E during tomato processing. *J Agric Food Chem* 2004; 52(23): 7005-7010.
114. Hoischen D, Colmenares LU, Liu J, Simmons CJ, Britton G, Liu RSH. Fluorinated analogs of the carotenoprotein a-crustacyanin. *Bioorg Chem* 1998; 26(6): 365-374.
115. Rodríguez-Amaya DB. *A guide to carotenoid analysis in foods*. Washington, D.C.: ILSI Press; 2001.
116. Chen BH, Peng HY, Chen HE. Changes of carotenoids, color and vitamin A content during processing of carrot juice. *J Agric Food Chem* 1995; 43: 1912-1918.
117. Meléndez-Martínez AJ, Britton G, Vicario IM, Heredia FJ. Color and carotenoid profile of Spanish Valencia late ultrafrozen orange juices. *Food Res Int* 2005; 38: 931-936.
118. Zandomenighi M, Festa C, Carbonaro L. Front-surface absorbance spectra of wheat flour: determination of carotenoids. *J Agric Food Chem* 2000; 48: 2216-2221.
119. Hornero-Méndez D, Mínguez-Mosquera MI. Rapid spectrophotometric determination of red and yellow isochromic carotenoid fractions in paprika and red pepper oleoresins. *J Agric Food Chem* 2001; 49: 3584-3588.
120. Britton G. Carotenoids. En: Dey PM, Harborne JB, editores. *Methods in plant Biochemistry*. London: Academic Press; 1991. p. 473-518.
121. Britton G, Young A. Methods for isolation and analysis of carotenoids. En: Young A, Britton G, editores. *Carotenoids in photosynthesis*. London: Chapman & Hall; 1993. p. 409-458.
122. Davies BH. Carotenoids. En: Goodwin TW, editores. *Chemistry and Biochemistry of plant pigments*. London, New York, San Francisco: Academic Press; 1976. p. 38-165.
123. De Ritter E, Purcell AE. Carotenoid analytical methods. En: Bavernfeind JC, editores. *Carotenoids as colorants and vitamin A precursors*. New York: Academic Press; 1981. p. 815-883.

Recibido: 20-03-2007

Aceptado: 11-07-2007

Bone mineralization in Brazilian adolescents: the years of maximum bone mass incorporation

Carla C. Silva, Tamara B. L. Goldberg, Altamir S. Teixeira, José C. Dalmas

Paulo State University (UNESP), São Paulo, Brazil., Londrina State University-UEL

SUMMARY. Puberty is the fundamental period for bone mass (BM) acquisition. In this period mineralization is found to increase with levels of high bone formation. The critical years of intense bone anabolism deserve special attention, as adequate gain could minimize fracture risk in later years. The objective of this work was to study bone mineral content (BMC) and bone mineral density (BMD) in male adolescents with age bracket and maturation level. Sixty-one healthy male 10 to 19 year-olds were evaluated for calcium intake, weight, stature, BMI, puberty stage and BMC and BMD in the lumbar spine and femur. BM was measured by bone densitometry (DXA). Calcium intake was calculated by recording 3 days diet. Puberty stage was defined as per Tanner. Descriptive statistics was used with means and standard deviations, linear correlation, and analysis of variance for comparison between age groups, and the Tukey test ($p < 0.05$). Linear correlation was positive and indicated body weight as the main correlation variable with BMD in both studied locations ($p < 0.01$). BMC and BMD increased with age, differences were significant from 14 to 15 years, and when adolescents reached Tanner stage G4. These results showed a pronounced increase in bone mineralization, with the years after 14 to 15 being critical for BM acquisition in Brazilian adolescents.

Key words: Adolescence, pubertal events, bone mass, bone mineral density, calcium intake.

RESUMEN. Mineralización ósea en adolescentes brasileños: años de máxima incorporación de masa ósea. La pubertad es un momento fundamental para la adquisición de la masa ósea (MO). En este período, la mineralización se encuentra en aumento en los niveles de formación ósea. Los años críticos de intenso anabolismo óseo necesitan de atención, porque el adecuado aumento de la masa ósea podría minimizar el riesgo de fracturas en los años posteriores. El objetivo de esta investigación fue estudiar el contenido mineral óseo (CMO) y la densidad mineral ósea (DMO) en adolescentes según el grupo de edad y el nivel de maduración. Sesenta y un adolescentes saludables de 10 a 19 años fueron evaluados cuanto a la ingesta de calcio, peso, estatura, índice de masa corpórea (IMC), etapa puberal, CMO y DMO en la columna lumbar y en el fémur. La MO fue medida por densitometría ósea (DEXA). La ingesta de calcio fue calculada mediante un recordatorio de ingesta de tres días. La etapa puberal fue definida por los criterios de Tanner. Estadística descriptiva fue utilizada con media y desviación estándar, correlación lineal y análisis de varianza para comparar los grupos y test de Tukey ($p < 0,05$). Correlación lineal fue positiva e indicó que el peso corporal fue la principal variable correlacionada con la DMO en los dos sitios estudiados ($p < 0,01$). CMO y DMO aumentaron con la edad y las diferencias fueron considerables de los 14 a los 15 años, cuando los adolescentes alcanzaban la etapa G4 de Tanner. Estos resultados muestran un aumento pronunciado en la mineralización ósea; entre los 14 y 15 años fueron críticos para la adquisición de MO en adolescentes brasileños.

Palabras clave: Adolescencia, eventos puberales, masa ósea, densidad mineral ósea, ingesta de calcio.

INTRODUCTION

The bone mineralization process begins in the fetus, extending throughout infancy, and peaks in adolescence. These years are the fundamental period for bone mass acquisition. Several researchers consider that infancy and adolescence have highest bone mineral capital increase for both sexes (1-6).

International research has been developed showing the relationship between adolescence and bone health. These studies are based on the cyclic principle involving bone mass deposition throughout life. Infancy and adolescence are marked by a very important bone formation rate with predominance of formation over reabsorption. In adulthood both processes stabilize and from 45 to 50 years, especially for females, there is a predominance of bone reabsorption.

However, bone reabsorption is not exclusive to females as both osteopenia and osteoporosis have significantly increased in males (7).

Expressive longitudinal growth during puberty has three distinct phenomena which occur sequentially. They are: growth spurt lasting about 2 to 3 years, characterized by a reduced growth velocity prepuberal phase, an accelerated growth velocity known as Peak Height Velocity (PHV), and a growth cessation phase which contributes to over 20% of final adult stature; a rapid acquisition of bone mineral content known as bone mass peak, and the skeletal maturation process which ends with epiphyseal closure (1,2,8,9).

Bone mass peak contributes to 40 - 50% of bone mineral content variation, with the incorporation of approximately 1000g mineralized bone during adolescence [10]. Research

has shown that when bone mass accumulation is potentialized during puberty and maintained in adulthood we can minimize reductions from advancing age, thus helping to prevent osteopenia/osteoporosis and consequent fractures (11).

Osteoporosis is a heterogenous disorder considered a severe public health problem which can in part be due to inadequate bone gain during infancy and adolescence (12). Nutritional factors such as adequate calcium supplement, according to age bracket and gender [13] and physical exercise, especially with high impact show protective effects related to healthy bone tissue maintenance independent to the time in life when these measures are adopted; however they should be put into practice early in infancy and adolescence (11,14,15).

In recent years, methods have been developed to accurately evaluate bone mass allowing us to better understand bone tissue dynamics. Dual energy x-ray absorptiometry (DXA) allows very precise analysis with low radiation exposure; this is suitable for evaluating children and adolescents (16,17).

Variations in bone density during infancy and adolescence have been seen in epidemiological studies in different countries. In Brazil however, there have been few investigations on bone mineralization in healthy children and adolescents (18). The objective of this study was to determine the behavior of bone mineral content (BMC) and bone mineral density (BMD) in male adolescents in relation to age bracket and sexual maturity levels.

SUBJECTS AND METHODS

This study included 10 to 19-year-old healthy volunteer students from a private school (Associação Brasileira de Educadores Lassalistas, Colégio La Salle, Botucatu, São Paulo State). The research was approved by the Research Ethics Committee of Botucatu School of Medicine – UNESP, and the volunteers and their parents/guardians gave informed written consent.

Inclusion criteria were weight between the 10 and 90 percentiles, and height between the 10 and 97.5 percentiles for each age bracket (19), with adequate body mass index (BMI) for their age (20), and with daily dairy product intake. They had to be non-smokers and non-drinkers, could not be involved in any extra-curricular sporting activity, only the school's physical education classes. Control of normal physical activity was not necessary as investigations indicate that it is programmed sporting activities that produce higher increases in bone mass (1,2,15).

Exclusion criteria were: history of prematurity or low birth weight, prolonged corticoid therapy, or calcium or iron supplement in the twelve months prior to research. Other exclusion criteria were: diabetes mellitus, acute or chronic malnutrition, congenital or acquired bone diseases, gastrointestinal diseases followed by malabsorption, history of nephropathy with or without chronic renal insufficiency,

endocrinopathies, precocious and delay puberty, chronic drug consumption, cystic fibrosis, celiac disease, and use of drugs negatively affecting bone metabolism such as anticonvulsants and antacids with aluminum. Exclusions related to diet were: vegetarianism, high fiber, caffeine, or soft drinks consumption, and no daily dairy product intake.

Data collection started at school; randomly selected students without any dysfunction or disorder exclusions were invited for weight and height measurements. When weights and heights were within the proposed limits, they were asked about drinking and smoking habits. Those fulfilling the criteria were then invited to participate in the study. Their parents/guardians were then contacted to explain the methods used and seek consent. Students or parents could withdraw from the study at any time.

From 497 students, 61 who fitted the inclusion criteria participated in all evaluations. A private school was chosen because it represents a socially privileged population thus ensuring the most favorable conditions to achieve full bone gain potential. As far the ethnic question is concerned, the extent of miscegenation in Brazil is very high, however none of our adolescents were children of exclusively African or Asian origin parents.

Volunteers fitting the criteria were then invited with their parents to attend the Adolescent Outpatient Clinic at Botucatu University Hospital School of Medicine – UNESP where they were interviewed with their parents and submitted to a general and specific physical examination to detect any physical alterations. Secondary Sexual Characters were evaluated, and compared to Tanner Criteria (21). To assess the impact of puberty stage on bone mineralization, maturation level by visual inspection of genitals was compared to BMC and BMD results from dual energy x-ray absorptiometry (DXA). Skeletal maturity (bone age) was obtained by the GP method (22), where hand and wrist x-rays are compared with the Atlas.

Diet characterization then followed using a three-day dietary record completed by participants and analyzed by the authors to obtain information on food intake, preferences, refusals, the main meals involving calcium and any other factors that could possibly interfere in the bio-availability of this mineral (23). Centesimal quantification of food data was by a computerized nutritional analysis system developed by São Paulo University School of Public Health Nutrition Department (24).

BMC (g) and BMD (g/cm²) were determined for each adolescent by a DXA with Hologic QDR 2000-Plus densitometer. Bone mass evaluation was performed on the lumbar spine between L1-L4 and the femoral neck.

Data were analyzed using Statistica Version V. Age brackets (AB) between 10 and 19 years were defined as follows: 10y complete to 11y, 11m, 29d (AB 1); 12y to 13y, 11m, 29d (AB 2); 14y to 15y, 11m, 29d (AB 3); 16y to 17y, 11m, 29d (AB 4); and 18y to 19y, 11m, 29d (AB 5). Means

and standard deviations were used to characterize weight, height, BMI, and three-day mean calcium intake. Pearson simple linear correlation coefficients were calculated between bone mass and morphological aspects, and puberty stage ($p < 0.01$). Analysis of variance was used to compare all ABs and maturation levels with BMC and BMD, and the Tukey test was used to locate significant differences ($p < 0.05$).

RESULTS

Table 1 shows general characteristics: body weight, height, BMI, and mean daily calcium intake calculated by recording diet over three days for each age bracket.

We observed increased body weight, height, and BMI with advancing age; these were significant from 14 to 15 yrs (AB 3) on (Table 1).

TABLE 1
General characteristics of the adolescents studied: body weight (kg), stature (m), BMI (kg/m²), and total calcium intake (mg/day)

Age Bracket Age (years)	Weight (kg) X ± SD	Stature (m) X ± SD	BMI (kg/m ²) X ± SD	Calcium (mg/day) X ± SD
(AB1)10-11 (n=14)	35.75 ± 4.57 c	1.432 ± 0.07 bc	17.39 ± 1.43	783 ± 236
(AB2)12-13 (n=14)	43.49 ± 8.47 ac	1.550 ± 0.08 ac	17.91 ± 1.63	740 ± 198
(AB3)14-15 (n=14)	57.71 ± 7.53 ab	1.710 ± 0.06 ab	19.67 ± 1.83 a	887 ± 228
(AB4)16-17 (n=12)	62.71 ± 7.48 ab	1.731 ± 0.07 ab	20.91 ± 1.99 ab	894 ± 275
(AB 5) 18-19 (n=7)	70.34 ± 3.20 abc	1.803 ± 0.05 ab	21.65 ± 1.16 ab	1073 ± 434 b

ANOVA analysis of variance and Tukey's test for differences between age groups.

Letters show the differences between age groups ($p < 0.05$).

^aDifference between AB1 and the other groups.

^bDifference between AB2 and the other groups.

^cDifference between AB3 and the other groups.

BMI= body mass index; AB= Age brackets; SD= standard deviations

After analysis of the dietary diaries records completed by the adolescents, we observed that calcium intake for the different age groups were from 740±198 mg/day to 1,073±434 mg/day, with an average of 863±280 mg/day.

Pearson's simple linear correlation coefficient was used

to investigate the impact of body dimension and nutritional changes related to genital maturation stage classification over bone mass. Table 2 shows significant and positive differences for simple linear correlation between all variables; significance level was less than 1%.

TABLE 2
Simple correlation coefficients between variables related to bone mass, morphological aspects, and secondary sexual characteristics

Bone Mass	Age (years)	Bone Age (years)	Weight (kg)	Stature (m)	BMI (kg/m ²)	Genitals (stage)
Spine area (cm ²)	0.774*	0.765*	0.860*	0.890*	0.602*	0.789*
Spine BMC (g)	0.831*	0.830*	0.881*	0.860*	0.687*	0.807*
Spine BMD (g/cm ²)	0.827*	0.840*	0.852*	0.803*	0.714*	0.797*
Femur area (cm ²)	0.782*	0.803*	0.891*	0.922*	0.648*	0.843*
Femur BMC (g)	0.822*	0.831*	0.919*	0.882*	0.743*	0.814*
Femur BMD (g/cm ²)	0.758*	0.748*	0.805*	0.725*	0.711*	0.706*

*Significant values ($p < 0.01$).

More precise analysis reveals that, from all the studied indicators, BMI had the poorest correlation to adolescent bone mass. The highest correlation was between BMC and body weight; the score for lumbar spine was $r=0.88$, and for femoral neck was $r=0.91$. The highest correlation for BMD was also to body weight; the score for lumbar spine was $r=0.85$, and femoral neck $r=0.80$. The correlation between skeletal and

sexual maturation indicators was greater than 0.70, showing a strong participation from biological maturation in relation to bone mass increase for these adolescents.

Table 3 shows BMC and BMD values for lumbar spine and femoral neck with adolescent age. Significant differences ($p<0.05$) were seen from 14 to 15 yrs (AB 3) for both BMC and BMD in these regions.

TABLE 3
Mean and standard deviations of bone mineral content and bone mineral density in the lumbar spine and femoral neck for age groups

Age (Years)	BMC- Spine (grams)	BMD-Spine (g/cm ²)	BMC-Femur (grams)	BMD-Femur (g/cm ²)
(AB-1)10–11	28.71 ± 3.95 ^c	0.618 ± 0.049 ^c	26.01 ± 3.69 ^c	0.800 ± 0.07 ^c
(AB-2)12–13	36.08 ± 10.16 ^c	0.708 ± 0.116 ^c	32.85 ± 9.73 ^c	0.844 ± 0.08 ^c
(AB-3)14–15	51.54 ± 13.28 ^{ab}	0.836 ± 0.132 ^{ab}	48.87 ± 9.40 ^{ab}	0.978 ± 0.14 ^{ab}
(AB-4)16–17	59.26 ± 11.38 ^{ab}	0.937 ± 0.113 ^{ab}	54.54 ± 11.65 ^{ab}	1.095 ± 0.17 ^{ab}
(AB-5)18–19	76.72 ± 10.46 ^{abc}	1.094 ± 0.132 ^{abc}	62.15 ± 7.35 ^{abc}	1.205 ± 0.11 ^{abc}
Total (n=61)	47.16 ± 18.50	0.806 ± 0.187	42.59 ± 15.54	0.956 ± 0.18

ANOVA analysis of variance and Tukey's test for differences between age groups

Letters show differences between age groups ($p<0.05$).

^a Difference between AB1 and the other groups.

^b Difference between AB2 and the other groups.

^c Difference between AB3 and the other groups.

BMC= bone mineral content; BMD= bone mineral density

Bone mineralization parameters were compared with sexual maturation level, particularly genital development, to see which stages of puberty had the highest increase in bone

mass (Table 4). Significant differences ($p<0.05$) were seen in G4 and G5 for both BMC and BMD; there were no significant alterations in mineralization parameters between G1 and G3.

TABLE 4
Mean and standard deviations of bone mineral content and bone mineral density in the lumbar spine and femoral neck according to sexual maturity levels

Genital Development	BMC- Spine (grams)	BMD-Spine (g/cm ²)	BMC-Femur (grams)	BMD-Femur (g/cm ²)
G 1 (n=6)	25.98 ± 2.86	0.584 ± 0.045	24.53 ± 3.43	0.786 ± 0.089
G2 (n=12)	29.61 ± 4.26	0.639 ± 0.053	26.48 ± 3.71	0.806 ± 0.066
G3 (n=8)	34.48 ± 6.77	0.694 ± 0.102	33.13 ± 3.93	0.842 ± 0.062
G4 (n=15)	51.55 ± 13.46 ^{ab}	0.844 ± 0.121 ^{ab}	50.00 ± 13.35 ^{abc}	0.999 ± 0.178 ^b
G5 (n=20)	65.03 ± 13.51 ^{abc}	0.989 ± 0.138 ^{abc}	55.90 ± 8.97 ^{abc}	1.109 ± 0.151 ^{abc}

ANOVA analysis of variance and Tukey's test for differences between age groups

Letters show differences between age groups ($p<0.05$).

^a Difference between G1 and the other groups.

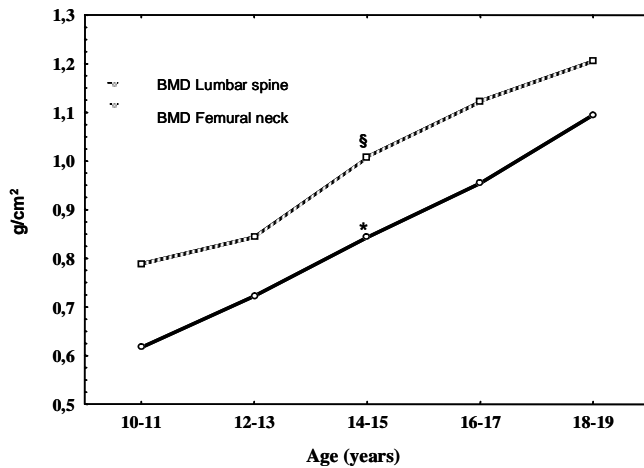
^b Difference between G2 and the other groups.

^c Difference between G3 and the other groups.

Figure 1 shows BMD variation in ABs. Increased growth can be seen from 10 to 19 yrs, with significant differences in femur neck and lumbar spine BMD between 14 and 15 yrs. Femoral neck values are higher than lumbar spine at all ages.

FIGURE 1

Variation in bone mineral density according to age group



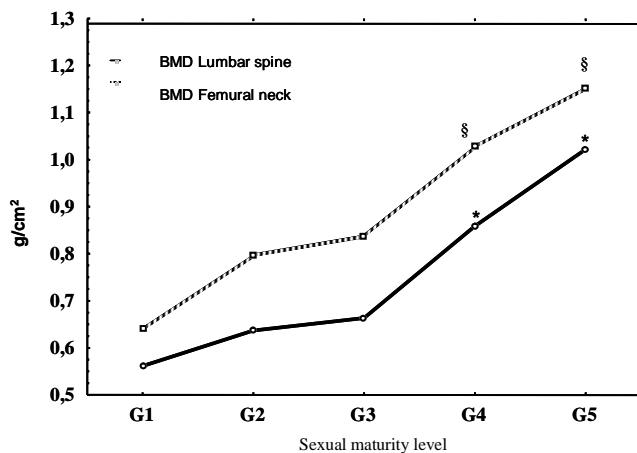
* > significant in BMD – Lumbar spine ($p < 0.05$).

§ > significant in BMD – Femoral neck ($p < 0.05$).

Bone mineralization behavior was similar and increased with sexual maturation (Figure 2), indicating significant differences in G4 and G5 for BMD in both regions. However in G3, we can clearly see pronounced increases in BMD.

FIGURE 2

Variation in bone mineral density according to sexual maturity levels



* > significant in BMD – Lumbar spine ($p < 0.05$).

§ > significant in BMD – Femoral neck ($p < 0.05$).

DISCUSSION

Bone mineralization is a complex process with several factors affecting bone mass acquisition, the most important being genetic factors; body dimension, weight, and height alterations; hormonal profile which leads to sexual and skeletal maturity; physical exercise; and an adequate calcium intake at this age which is reflected in strong bone mineralization (7,12,25,26).

This study showed mean nutrition indicator values for body weight, stature and BMI for each age bracket similar to those presented by the National Center for Health Statistics (NCHS) data, as inclusion criteria were similar to the methods chapter (19,20).

In this group, the calcium supplement intake did not reach minimum recommended levels. Intake ranged from 713 ± 292 to 1451 ± 334 mg/day, when ideal intake for adolescents of either sex should be 1300 mg/day (13). Literature shows that maximum intake should not exceed 2500 mg/day; this was not reached by any adolescent in this study. However values in this study were higher than in other Brazilian studies for the same age bracket (27-29). Transverse studies on children and adolescents indicate the beneficial effects of adequate calcium intake on bone mass peak (12). Apparently, low calcium intake during child and adolescent growth results in lower bone mineralization than with same age bracket individuals who had adequate intake (30).

According to Abrams et al. (31) there is no doubt that adolescents may adapt to very low calcium intakes (< 500 mg/day) by increasing fractional absorption and decreasing both urinary and endogenous fecal calcium excretion, but the exact contributions to “calcium economy” are not known at this time. They suggest that those on very low calcium intakes are at substantial risk of low calcium retention. However, a double blinded controlled study on calcium carbonate supplementation over 13 months in 143 male adolescents showed a significant increase in spinal (+2.5%), proximal femur (+2.3%), and whole body (+1.3%) bone mineral content. The authors also emphasized that bone mass potentialization is associated with an increase in stature (0.4%) equivalent to 7 mm (32).

The mean for calcium intake in our study was 863 ± 280 mg/day, values under the dietary intake references for calcium (DRI) (13), but superior to those considered as very low calcium intake (31).

The beneficial impact of calcium intake on child and adolescent bone mineralization was reported in a longitudinal study by Lee et al. (33). Calcium carbonate (800 mg/day) was given for 18 months to children of both sexes with a mean age of 8.5 years. The results showed a significant increase in lumbar spine BMC in relation to controls.

The potential benefits of a calcium rich diet and systematic

physical exercise during infancy and adolescence have been reported by several authors (2,4,11). These behaviors are the basis of a healthy lifestyle related to bone mass. Literature shows that adequate habits started in pediatric populations tend to last throughout adult life and minimize the risk of fractures later on (2,12,15).

The results in Table 2 are similar to other investigations correlating BMD with anthropometric variables such as body weight, height, and alterations in sexual and bone maturation (12,18,29).

In a Brazilian study, Pessoa et al. (34) evaluated BMC and BMD in pre-pubescent children, 7–8 years old, and found high and positive correlations between lumbar spine BMC and BMD and bone age, body weight, and height. They suggest that interpretation of bone mass in pre-pubescence should be linked to body weight and bone age variation (34). Similarly, Klein reported a significant correlation between total body BMD and chronological and bone age in children of approximately 10 years old and of both sexes (35).

In relation to age, this study shows significant differences from 14 to 15 years, both in BMC and BMD in the lumbar spine and femoral neck regions. Rubin evaluated BMD in 299 children and adolescents of both sexes between 6 and 18 years old (12). The results indicated a major acceleration in lumbar spine BMD from 13 years in males, which stabilized around 15 to 16 years, similar to our study. In a study with 207 Caucasian children and adolescents of both sexes between 9 and 17 years, there was a pronounced difference in males in both lumbar spine and femoral neck between 13 and 17 years [36]. According to Theintz, the period between 13 and 17 years was fundamental for BMD increase in the lumbar spine and femoral neck (37).

Everything indicates that the period from 14 to 16 years old is critical for bone mineralization. These data are in agreement with several studies where there a linear increase was seen in bone mass during infancy, with an exponential increase during puberty in several bone sites (12,18,38).

Although age is a major temporal indicator for alterations occurring in adolescence, it is limited in relation to the constant modifications occurring in puberty due to maturation level variability in individuals of the same age. More recently researchers have reported that puberty stage and bone age should be considered when interpreting bone mass measurements (26).

Male adolescents significantly increase bone mass between the ages of 14 and 15, and between G4 and G5 maturation levels; this is reflected in the bone mineral content and bone mineral density gains seen in our study in the lumbar spine and femoral neck regions. Therefore, to be between 14 and 15 years old and over the G3 maturation stage, corresponds to a critical gain in bone mass acquisition which impacts high mineralization rate.

This study shows that the increase in bone mineralization during puberty occurs at the same time as significant increases in body dimensions and is related to secondary sexual characters.

It is important to emphasize that the adolescents in this study come from a socially differentiated stratum with adequate weight and height, and higher calcium intake than other Brazilian studies (27-29). The results indicate variations in BMC and BMD in healthy adolescents. Currently, this is the only study that considers rigorous inclusion and exclusion criteria for the Brazilian population. When compared with international published data they indicate great similarity.

ACKNOWLEDGEMENTS

To Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo for financing part of this research. FAPESP- Process 04/07007-1.

REFERENCES

1. Pettersson U, Nordström P, Alfredson H, Henriksson-Larsén K, Lorentzon R. Effect of high impact activity on bone mass and size in adolescent female: a comparative study between two different types of sports. *Calcif Tissue Int* 2000; 67: 207-214.
2. Lima F, Falco V, Baima J, Carazzato JG, Pereira RMR. Effect of impact load and active load on bone metabolism and body composition of adolescent athletes. *Med Sci Sports Exerc* 2001; 33: 1318-1323.
3. Jones G, Riley MD, Whiting S. Association between urinary potassium, urinary sodium, current diet, and bone density in prepuberal children. *Am J Clin Nutr* 2001; 73: 839-844.
4. Outila TA, Kärkkäinen MUM, Lamberg-Allardt CJE. Vitamin D status affects serum parathyroid hormone concentrations during winter in female adolescents: associations with forearm bone mineral density. *Am J Clin Nutr* 2001; 74: 206-210.
5. Crawford PB, Wang MC, Sabry ZI, Hudes M, VanLoan M, Bachach LK. Adolescent diet is predictive of peak bone mass. *Am J Clin Nutr* 2002; 75: 356S.
6. Chinn DJ, Fordham JN, Kibirige MS, Crabtree NJ, Venables J, Bates J, Pitcher O. Bone density at the os calcis: reference values, reproducibility, and effects of fracture history and physical activity. *Arch Dis Child* 2005; 90: 30-35.
7. Lorentzon M, Lorentzon R, Bäckström T, Nordström P. Estrogen receptor gene polymorphism, but not estradiol levels, is related to bone density in health adolescents boys: A cross-sectional and longitudinal study. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 4597-4601.
8. Rubin K. Pubertal development and bone. *Curr Opin Endocrinol Diab* 2000; 7: 65-70.
9. Phillip M, Lazar L. The regulatory effect of hormones and growth factors on the pubertal growth spurt. *Endocrinology* 2003;13: 465-469.
10. Lloyd T, Chinchilli VM, Johnson-Rollings NRN, Kieselhorst KRD, Eggl DF, Marcus RMD. Adult female hip bone density

- reflects teenage sports-exercise patterns but not teenage calcium intake. *Am Academy Pediatrics* 2000; 106:40-44.
11. Badenhop-Stevens N, Matkovic V. Calcium needs in children. *Orthopaedic Nursing* 2004; 23(4): 228-232.
 12. Rubin K, Schirduan V, Gendreau P, Sarfarazi M, Mendola R, Daisky G. Predictors of axial and peripheral bone mineral density in health children and adolescents, with special attention to the role of puberty. *J Pediatr* 1993; 123: 863-870.
 13. Institute of Medicine (US). Dietary references intakes for calcium, phosphorus, magnesium, vitamin D and fluoride. Washington (DC): National Academy Press; 1998.
 14. Kohrt WM, Bloomfield SA, Little KD, Nelson ME, Yingling VR. Physical activity and bone health. *Med Sci Sports Exerc; Special Communications* 1985-1996; 2004.
 15. Mackelvie KJ, Khan KM, McKay HA. Is there a critical period for bone response to weight-bearing exercise in children and adolescents? A systematic review. *Br J Sports Med* 2002; 36:250-7.
 16. Bonjour JP. Peak bone mass, calcium, and protein intakes. *Feed Toddlers Adolesc* 1996; 37: 31-43.
 17. Boot AM, Bouquet J, Ridder MAJ, Krenning EP, Keizer-Schrama SMPFM. Determinants of body composition measures by dual-energy x-ray absorptiometry in Dutch children and adolescents. *Am J Clin Nutr* 1997; 66: 232-238.
 18. Fonseca ASM, Szejnfeld VL, Terreri MT, Goldenberg J, Ferraz MB, Hilário MOE. Bone mineralization density of the lumbar spine of Brazilian children and adolescents aged 6 to 14 years. *Braz J Med Biol Res* 2001; 34: 347-352.
 19. Hamill PVV, Drizd TA, Johnson CL, Reed RB, Roche AF, Moore WM. Physical growth: National Center for Health Statistics Percentiles. *Am J Clin Nutr* 1979; 32: 607-629.
 20. Prevalence of overweight among adolescents-United States, 1988-91. *MMWR Morb Wkly Rep* 1994; 43: 818-821.
 21. Marshall WA, Tanner JM. Variation in the pattern of pubertal changes in boy. *Arch Dis Child* 1970; 45: 13.
 22. Greulich WW, Pyle SI. Radiographic atlas of skeletal development of the hand and wrist, 2nd. ed. Stanford: University Press; 1959.
 23. Cintra IP, Von Der Heydy MED, Schitz BAS, Francheschini SCC, Taddei JAAC, Sigulen DM. Métodos de inquéritos dietéticos. *Cad Nutr* 1997; 13: 11-23.
 24. Philiphi ST, Szarfarc SC, Lattrza AR. Virtual Nutri. Versão 1.0 for Windows. Departamento de Nutrição: Faculdade de Saúde Pública Universidade de São Paulo; 1996.
 25. Blanchet C, Giguère Y, Prud'homme D, Dumont M, Rousseau F, Dodin S. Association of physical activity and bone: influence of vitamin D receptor genotype. *Med Sci Sport Exerc* 2002; 34: 24-31.
 26. Ahmed SF, Weaver LT. Letter to the editor. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2005; 40: 99-103.
 27. Albuquerque MFM, Monteiro AM. Ingestão de alimentos e adequação de nutrientes no final da infância. *Rev Nutr PUCCAMP* 2002; 15: 291-99.
 28. Garcia GCB, Gambardella AMD, Frutuoso MFP. Estado nutricional e consumo alimentar de adolescentes de um centro de juventude da cidade de São Paulo. *Rev Nutr PUCCAMP* 2003;16: 41-50.
 29. Vargas DM, Rigotti T, Gütz CNRM, Lobe MCS, Fernandes JA. Mineralização óssea em crianças e adolescentes com diabetes melito tipo 1. *J Pediatr* 2003; 79: 253-258.
 30. Jackman LA, Millane SS, Martin BR, Wood OB, McCabe GP, Peacock M et al. Calcium retention in relation to calcium intake and postmenarcheal age in adolescent females. *Am J Clin Nutr* 1997; 66: 327-333.
 31. Abrams SA, Griffin IJ, Hicks PD, Gunn SK. Pubertal girls only partially adapt to low dietary calcium intakes. *J Bone Miner Res* 2004;19:759-763.
 32. Prentice A, Ginty F, Stear SJ, Jones SC, Laskey MA, Cole TJ. Calcium supplementation increases stature and bone mineral mass of 16- to 18-year-old boys. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90: 3153-3161.
 33. Lee WTK, Leung SSF, Leung DMY, Cheng JCY. A follow-up study on the effects of calcium-supplement withdrawal and puberty on bone acquisition of children. *Am J Clin Nutr* 1996; 64: 71-77.
 34. Pessoa JHL, Lewin S, Longui CA, Mendonça BB, Bianco AC. Densidade mineral óssea: correlação com peso corporal, estatura, idade óssea e fator de crescimento símile à insulina. *J Pediatr* 1997; 73: 259-264.
 35. Klein KO, Larmore KA, Lancey E, Brown JM, Considine RV, Hassink SG. Effect of obesity on estradiol level, and its relationship to leptine, bone maturation, and bone mineral density in children. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 3469-3475.
 36. Bonjour JP, Theintz G, Buchs B, Sloman D, Rizzoli R. Critical years and stages of puberty for spinal and femoral bone mass accumulation during adolescence. *J Clin Endocrinol Metab* 1991;73: 555-563.
 37. Theintz G, Buchs B, Rizzoli R, Sloman D, Clavien H, Sizonenko PC et al. Longitudinal monitoring of bone mass accumulation in health adolescents: evidence for marked reduction after 16 years of age at the levels of lumbar spine and femoral neck in female subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 1992; 75: 1060-1065.
 38. Hui SL, Dimeglio LA, Longcope C, Peacock M, McClintock R, Perkins AJ et al. Difference in bone mass between black and white American children: Attributable to body build, sex hormone levels, or bone turnover? *J Clin Endocrinol Met* 2003; 88:642-49.

Recibido:17-04-2007

Aceptado:24-07-2007

Nivel socioeconómico y estado nutricional. Un estudio en escolares

Daniela Adjemian, Patricia Bustos, Hugo Amigo

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

RESUMEN. La obesidad ha aumentado en años recientes en tasas que difieren según el nivel socioeconómico (NSE). El propósito de este estudio fue analizar la asociación entre NSE y estado nutricional de escolares de enseñanza básica en seis comunas con las mayores prevalencias de obesidad en Santiago, Chile. Se seleccionaron escuelas con diferentes prevalencias de obesidad en cada comuna y los escolares se escogieron aleatoriamente en cada escuela. Se evaluaron antropométricamente los escolares y a sus madres se les aplicó una encuesta sociodemográfica y del registro alimentario de 24 horas de sus hijos. Mediante la técnica de componentes principales se clasificó la muestra entre los que son de menor y mayor NSE. La prevalencia de exceso de peso fue de 51,1%, (24,7% tenía sobrepeso y 26,4% eran obesos) sin diferencias significativas entre NSE. Los de menor NSE presentaron menores valores de IMC, pliegues y circunferencia del brazo e ingesta alimentaria, sin embargo estas diferencias no fueron estadísticamente significativas. Hubo también una menor tendencia al sedentarismo en los de menor NSE, ya que usaban más lugares comunitarios [Odds Ratio (OR) 1,91; Intervalos de Confianza (IC) 1,05-3,48] y se iban y volvían al colegio caminando (OR 6,76; IC 2,75-16,67). En conclusión, aunque no hubo asociación significativa entre NSE e indicadores antropométricos e ingesta alimentaria, aunque los escolares de menor NSE tienen una tendencia a tener valores más bajos de estos índices y son más activos.

Palabras clave: Nivel socioeconómico, escolares, obesidad, estado nutricional.

SUMMARY. Socioeconomic level and Nutritional Status: A study in schoolchildren. Obesity increased in recent years at different rates among socioeconomic levels (SEL). The purpose of this study was to analyze the association between SEL and nutritional status in schoolchildren attending elementary schools in the six counties that show the highest prevalence of obesity in Santiago, Chile. Within the counties schools were stratified according to obesity and children were randomly selected from each school. Anthropometric assessment was performed in children whilst a socio-demographic survey and a 24 hour recall of food intake were applied to their mothers. We classified the sample according to SEL in two categories (higher and a lower vulnerability). The prevalence of excess weight was 51.1% (24.7% overweight and 26.4% obese) without significant differences among SEL. The most vulnerable group had lower values of body mass index, skinfold thickness, arm circumference and food intake however, these differences were not statistically significant. At the same time, these children were physically more active, showing higher use of community places to play [OR 1.91; 95% CI 1.05-3.48] and walked larger distances from houses to schools OR 6.6; CI 2.5-16.7). Thus, albeit non significant association was detected between SEL and anthropometric indicators nor with food intake, the highest vulnerable group showed a tendency to have lower values and more physical activity.

Key words: Socioeconomic status, obesity, nutritional status, children.

INTRODUCCION

Estudios que reportan información antes de la década de los noventa sobre la asociación entre el nivel socioeconómico (NSE) y exceso de peso, apoyaban la idea que la obesidad en países en vías de desarrollo era un problema de los estratos socioeconómicos altos (1,2), aunque otros estudios han concluido que en algunas sociedades en vías de desarrollo la obesidad -al menos en mujeres- se presenta más en NSE bajos (3,4). Sin embargo, hay que reconocer que hay pocos estudios desagregados por grupos sociales.

Se ha señalado que a medida que el Producto Interno Bruto (PIB) de los países aumenta, los hombres de NSE más bajos

tienden a perder su protección contra el exceso de peso y las mujeres acentúan su alta prevalencia a esta enfermedad (4). También se ha indicado que existe inequidad en la distribución de la obesidad en países en desarrollo cuando se alcanza un PIB de US \$2500 dólares per cápita, en estos países las mayores tasas de obesidad se observan entre los más pobres (5,6).

Lo anterior podría explicar en parte el aumento de la obesidad en Chile (7). En la década pasada, Chile experimentó un crecimiento macroeconómico que trajo aparejado un aumento en los ingresos de la población. Esto se reflejó en cambios en el perfil epidemiológico y nutricional del país. El crecimiento económico anual promedio en Chile entre 1987-2000 fue de 6-7% y la proporción de población clasificada como pobre, que era de 44% en 1987, bajó a 18% en el año 2003 (8). El aumento en el PIB y la sostenida disminución de la pobreza se ha acompañado de un cambio cualitativo de la dieta y una disminución de la actividad física (7).

* Este trabajo contó con el financiamiento para la elaboración de tesis de magister otorgada por la Universidad de Chile y por el Fondo Nacional de Investigación en Salud (FONIS) con el proyecto N° SA04I2110.

Chile ha experimentado un constante aumento de las prevalencias del exceso de peso en la población escolar y existe una llamativa heterogeneidad en las cifras de obesidad en diferentes regiones, comunas y en las escuelas pertenecientes a un mismo municipio (9). En las actuales condiciones de alta prevalencia de obesidad y, por el interés de disminuir las desigualdades sociales, es relevante efectuar estudios que verifiquen el sentido y la fuerza de asociación entre NSE y exceso de peso en la población para poder establecer estrategias de prevención y/o focalización de las intervenciones. Por esto, el objetivo de éste estudio fue determinar la asociación entre NSE, exceso de peso y algunos de sus factores condicionantes, en escolares que asisten a establecimientos educacionales de las comunas de mayor prevalencia de obesidad de Santiago, Chile.

MATERIALES Y METODOS

El diseño del estudio fue de corte transversal donde se escogieron las comunas de la ciudad de Santiago en Chile con mayores niveles de exceso de peso, según el último censo realizado en los alumnos del primer año básico por el Ministerio de Educación

(9). Dentro de éstas comunas se seleccionaron escuelas con diferente prevalencia de obesidad y luego se sortearon aleatoriamente escolares de 2° año básico de ambos sexos cuyo rango de edad era entre 7-9 años. No se incorporó en este estudio escolares que tuvieran alguna enfermedad que primariamente causara obesidad, alguna incapacidad física que impidiera realizar las mediciones o hubieran iniciado su desarrollo puberal.

Los escolares se evaluaron antropométricamente mediante mediciones de peso, talla, pliegues cutáneos y circunferencia del brazo. El peso se midió usando una balanza "Seca" con precisión de 100 g que se calibró regularmente y la talla con un antropómetro con precisión de 1 mm, con estos datos se calculó el Índice de Masa Corporal (IMC). Se midió el pliegue subescapular y el tricaptal, ambos en el lado no dominante y con un caliper modelo Harpender. Además se midió la circunferencia del brazo con una cinta métrica. Todas las mediciones fueron efectuadas siguiendo técnicas internacionales de estandarización evaluando el error intra e interobservador(10). Este proyecto fue aprobado por el comité de ética de la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile y se obtuvo consentimiento informado de los padres previo a las mediciones o aplicación de encuestas.

Para evaluar la ingesta alimentaria de los niños se utilizaron dos encuestas de recordatorio de 24 hrs y una encuesta sociodemográfica que incluyó también hábitos alimentarios, de actividad física, características de la vivienda y del grupo familiar con el que vive el niño. Ambas encuestas fueron aplicadas a la madre en la escuela y/o su hogar por un entrevistador capacitado utilizando instrumentos probados y

validados anteriormente por este equipo de investigación (11,12).

Procesamiento y análisis de la información

Para analizar la información socioeconómica se utilizó un grupo de dieciocho variables pesquiasadas en la encuesta sociodemográfica, utilizando análisis de componentes principales. Este método permitió sintetizar un gran número de factores en pocos indicadores derivados de ellas (13,14). Para hacer los análisis se escogió el componente que explicó el mayor porcentaje de la varianza (27%), el cual sintetizaba variables relacionadas con tener pertenencias domésticas, vehículos, hacinamiento y escolaridad de los progenitores. Con estos datos se dividió la muestra en dos categorías, menor (30%) y mayor NSE (70%). El estado nutricional se evaluó a través del Índice de Masa Corporal (IMC), pliegues cutáneos y circunferencia del brazo en forma continua y la actividad física mediante interrogatorios de existencia y uso de espacios físicos en la vivienda, vecindario y modo de transporte del trayecto casa-escuela. La situación alimentaria fue evaluada mediante ingesta energética y de macronutrientes.

Para el procesamiento y análisis de los datos se utilizó el software SPSS (versión 13.1) y el SOFNUT (15). Para la comparación de las medianas se utilizó el test de la Mediana. Si la variable respuesta era continua, se usó regresión lineal múltiple y si era categorizada regresión logística.

RESULTADOS

Los niños de menor NSE tenían un mes más de edad que los de mayor NSE y la escolaridad del padre y de la madre (último curso aprobado) fue significativamente menor en estos mismos niños, dos años menos en el caso del padre ($p<0,01$) y tres en el caso de la madre ($p=0,004$). Al menos la mitad de los padres de los niños de mayor NSE completaron la enseñanza media y el ingreso per cápita fue el doble en las familias de estos últimos niños (Tabla 1). La mediana del ingreso per cápita de esta muestra pertenece al Quintil II de la distribución nacional.

TABLA1
Características generales de la muestra según nivel socioeconómico (NSE)

Variable	Menor NSE n=72 Mediana (P25-75)	Mayor NSE n=167 Mediana (P25-75)	p-value
Edad (años, meses)	7,8 (7,4-8,1)	7,7 (7,4-8,0)	0,044
Escolaridad padre (años)	10 (8-12)	12 (11-13)	<0,01
Escolaridad madre (años)	9 (8-11)	12 (10-13)	0,004
Ingreso per cápita (US \$)	53,6 (39,4-71,5)	107,2 (71,5-178,6)	<0,01

El estado nutricional de la muestra estudiada estuvo conformada por pocos enflaquecidos (1,7%), casi la mitad eran eutrófico (47,3%), y el resto presentó exceso de peso (51,1%), con porcentajes similares entre los con sobrepeso (24,7%) y los obesos (26,4%), sin observarse asociación significativa con el NSE. En relación a la obesidad, ésta fue mayor en los de mayor NSE, pero sin alcanzar significancia estadística (p=0,132) (datos no mostrados).

En ambos niveles socioeconómicos el IMC y los otros parámetros antropométricos son altos para la edad y con tendencia a valores superiores en los de mayor NSE. Asimismo estos consumen 85 calorías, 9 gramos de carbohidratos (CHO) y 6 gramos de lípidos más que el resto, aunque estas diferencias no alcanzan significancia estadística (Tabla 2). La distribución de calorías según los macronutrientes fueron 59-60% provenientes de los carbohidratos, 14% de proteínas y 27-28% de lípidos, no observándose asociaciones significativas entre los grupos (datos no mostrados en tablas).

TABLA 2
Mediciones antropométricas e ingesta alimentaria en escolares según nivel socioeconómico (NSE)

Variable	Menor NSE Mediana (p25-75)	Mayor NSE Mediana (p25-75)	p-value
IMC (kg/m2)	17,4 (16,3-20)	18,2 (16,4-20,3)	0,218
Pliegue subescapular (mm)	8,0 (5,8-12,1)	9 (6,3-13,6)	0,218
Pliegue tricipital (mm)	10,5 (8,1-15)	12,1 (8,5-15,3)	0,435
Circunf. Brazo(cm)	20,1 (19,1-23,1)	20,6 (19-23,2)	0,506
Calorías	1672 (1472-1828)	1757 (1543-2031)	0,217
Carbohidratos (CHO) (g)	247 (218-282)	256 (225-309)	0,342
Proteínas (g)	58 (50-66)	59 (52-73)	0,342
Lípidos (g)	49 (41-63)	55 (45-70)	0,129

Los de menor NSE usaban dos veces más los lugares comunitarios tales como cancha de fútbol, gimnasio y piscina y se iban y volvían de la casa a la escuela caminando siete veces más que el resto, aunque usaban menos el patio de sus casas y no acostumbraban a ir a paseos con sus familias (Tabla 3).

TABLA 3
Actividades físicas saludables y nivel socioeconómico* (NSE)

	Uso lugares Comunitarios OR (95% IC)	Caminar de ida o vuelta a la escuela OR (95% IC)	No uso patio OR (95% IC)	Nunca va a paseo OR (95% IC)	Ver más hrs TV OR (95% IC)	Tener más hrs sedentarias totales OR (95% IC)
Menor NSE	1,91 (1,05-3,48)	6,76 (2,75-16,67)	2,01 (1,13-3,58)	1,97 (1,1-3,52)	1,33 (0,73-2,42)	1,23 (0,68-2,25)

*Ajustado por: sexo y edad OR= Odds Ratio IC= Intervalo de confianza

Al analizar mediante modelos multivariados controlando por: edad, sexo, horas sedentarias totales e ingesta calórica, se observó una disminución del IMC y de los otros parámetros antropométricos en los de menor NSE, aunque no se alcanzó significancia estadística (Tabla 4).

TABLA 4
Variación índice de masa corporal (IMC), pliegues cutáneos y circunferencia de brazo y pertenecer a un menor nivel socioeconómico* (NSE)

	IMC (kg/m ²) Coef B (95% IC)	Pliegue subescapular (mm) Coef B (95% IC)	Pliegue tricipital (mm) Coef B (95% IC)	Circunferencia brazo (cm) Coef B (95% IC)
Menor NSE	-0,51 (-1,30 a 0,28) p= 0,202	-1,12 (-2,79 a 0,55) p= 0,188	-0,86 (-2,21 a 0,49) p= 0,211	-0,46 (-1,26 a 0,34) p= 0,256

* Ajustado por: sexo, ingesta calórica, horas sedentarias totales y edad IC= Intervalo de confianza

DISCUSION

Este trabajo, efectuado en escolares de segundo año básico de escuelas de la capital de Chile, no encontró asociación significativa entre pertenecer a un determinado NSE y tener valores mayores o menores en los indicadores antropométricos e ingesta de macronutrientes, aunque los niños de menor NSE tienen una tendencia a tener valores más bajos de estos indicadores y son más activos, en algunas de las variables analizadas: utilizan menos el transporte en vehículos motorizados para dirigirse a sus establecimientos educacionales y más los espacios comunitarios, para realizar sus actividades recreativas.

La relación entre nivel socioeconómico y aumento del peso es un tema en discusión y de relevancia en la actualidad (1-4), por la necesidad de definir correctamente beneficiarios de programas y/o establecer perfil de grupos de riesgo de aumento de peso en el contexto de la epidemia de obesidad, que afecta a varios países de América Latina (16,17). Se ha señalado consistentemente que las mujeres adultas de menor

NSE serían las que presentan mayores niveles de exceso de peso ya sea en países desarrollados o en los con rápida transición epidemiológica (18,19). Sin embargo, son pocos los estudios que han analizado la asociación con otros grupos poblacionales como pre-escolares y escolares, este es uno de los primeros estudios que intenta explorar la asociación entre mayor pobreza y aumento de los indicadores antropométricos en áreas de gran prevalencia de obesidad.

La falta de asociación estadística encontrada en este trabajo tiene al menos dos explicaciones:

- La homogeneidad social de la muestra: escolares que habitan en zonas urbanas pertenecientes solamente a escuelas públicas o subvencionadas por el Estado de Chile. Este tipo de escuelas son gratuitas y atienden mayoritariamente a hijos de familias del segundo quintil de ingresos nacionales (8). Esta homogeneidad aparente se justificaba inicialmente para identificar determinantes del aumento de peso en escuelas de diferentes niveles de obesidad en una misma comuna, pero esa homogeneidad no permitió toda la expresión de la asociación del estado nutricional con el nivel socioeconómico
- El otro elemento de explicación es que con el tamaño de la muestra establecido no fue posible detectar diferencias significativas. Probablemente si la muestra hubiera sido mayor se hubiera podido verificar esta asociación.

Se debe mencionar que en Chile, en un corto período (20 años), ha habido una importante disminución de la pobreza y de la indigencia (8), junto con esto ha existido un incremento del exceso de peso en los escolares (7,9,20). Estos antecedentes sugieren la existencia de nuevos grupos socioeconómicos emergentes que estarían abandonando la pobreza y obteniendo un mayor poder adquisitivo que les permitiría la compra de alimentos con alto contenido energético y bienes domésticos. Esto estimularía una alimentación no saludable y menor actividad física.

La mayor adquisición de alimentos por estos “grupos emergentes” no se ha acompañado de una dieta nutricionalmente equilibrada y saludable, ya que aún falta la etapa de aprender a seleccionar lo que se compra y consume. Esto se refuerza por el éxito de ventas de las cadenas de expendio de comida “chatarra” que se han extendido por las áreas urbanas de las principales metrópolis de América Latina y del mundo (21,22), especialmente en barrios de alta densidad demográfica donde se ubican estos establecimientos educacionales. Esto se comprueba en Chile por las informaciones que señalan un mayor consumo de energía, principalmente aportada por lípidos y azúcares (23-25).

Sin embargo, en este trabajo las calorías consumidas se ajustan a las recomendaciones propuestas por la FAO/OMS para niños entre 7-8 años (26). Además, la distribución de los

macronutrientes es la esperada en una dieta balanceada (27), pero como ya fue mencionado son los de mejor NSE los que tienen una mayor ingesta. Aunque se debe considerar que los datos aportados por la madre pueden tener un reporte inferior a lo real ya que éstas, al saber que los encuestadores eran del sector salud, pueden omitir la real ingesta especialmente en niños con exceso de peso.

El sedentarismo de estos grupos emergentes también parece ser una nueva característica de estos segmentos poblacionales. Esto se confirma por el hecho que en estos grupos se observa un aumento de bienes de consumo familiar como: televisión, computadores personales y vehículos, entre otros (28-29) que incentivan una menor actividad física.

Como fue mencionado anteriormente, este estudio fue efectuado en una muestra socialmente homogénea lo que forma parte de las debilidades. Para comprobar diferencias socioeconómicas en relación al estado nutricional hubiera sido preferible incluir escolares de NSE contrastantes. Adicionalmente se reconoce que para estudiar en forma más completa la ingesta alimentaria lo ideal hubiera sido complementar las dos encuestas de recordatorio de 24 horas con una de ingesta del fin de semana y una encuesta de tendencia de consumo.

Una de las fortalezas y desafíos de este estudio fue identificar, dos grupos socioeconómicos en una población aparentemente homogénea del punto de vista social. En la mayoría de los trabajos publicados se han utilizado índices socioeconómicos cuyos componentes -en la actualidad- carecen de sensibilidad en áreas urbanas y no discriminan entre grupos sociales (30-32), como por ejemplo: la disponibilidad de agua, de alcantarillado en la red domiciliaria, radio, TV, entre otras pertenencias domésticas.

Los resultados de este estudio sugieren la elaboración o fortalecimiento de programas destinados a prevenir y controlar el exceso de peso con especial énfasis en los grupos socioeconómicos emergentes que están disponiendo de mayores recursos socioeconómicos y serían los más vulnerables a ganar mayor peso a medida que aumentan sus recursos socioeconómicos.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el apoyo brindado por el doctor en estadística Dr Claudio Silva y a Marcia Erazo por su análisis crítico del manuscrito.

REFERENCIAS

1. Martorell R, Khan LK, Hughes ML, Grummer-Strawn LM. Obesity in Latin American women and children. *J Nutr* 1998; 128: 464-73.
2. Kain J, Vio F, Albala C. Obesity trends and determinant factors

- in Latin America. *Cad. Saúde Pública* 2003; 19(Suppl1):S77-86.
3. Ball K, Crawford D. Socioeconomic status and weight change in adults: a review. *Social Science and Medicine* 2005; 60: 1987-10.
 4. Monteiro CA, Moura E, Conde W, Popkin B. Socioeconomic status and obesity in adult populations of developing countries: a review. *Bulletin of The World Health Organization* 2004; 82: 940-46.
 5. Monteiro CA, Conde WL, Popkin BM. Obesity and inequities in health in the developing world. *Int J Obesity* 2004; 28: 1181-86
 6. Popkin B, Gordon-Larsen P. The Nutrition transition: worldwide obesity dynamics and their determinants. *Int J Obesity* 2004; 28: S2-9.
 7. Amigo H. Obesidad en el niño en América Latina: situación, criterios de diagnóstico y desafíos. *Cad. Saúde Pública* 2003; 19(Suppl.1): S163-70.
 8. Ministerio de Planificación y Cooperación Internacional. Encuesta CASEN. Consultado en : http://www.mideplan.cl/casen/modulo_ingresos.html en Noviembre, 2006.
 9. Junta Nacional de Auxilio Escolar y Becas. Situación nutricional de los escolares chilenos de primero básico. Disponible en: http://sistemas.junaeb.cl/estadosnutricionales_2005/index2.php. Consultado en Diciembre, 2006.
 10. Habitch JP. Standardization of quantitative epidemiological methods in the field. *Bol Of Sanit Panam* 1974; 74: 375-84.
 11. Amigo H, Bustos P, Leone C, et al. Growth deficit in Chilean schoolchildren. *J Nutr* 2001;131(2): 251-54
 12. Bustos P, Amigo H, Muñoz S, et al. Growth in indigenous and non indigenous Chilean schoolchildren from three levels of social vulnerability. *Am J Public Health* 2001; 91(10): 1645-49
 13. Johnson R, Wichern D. Principal Components. In: *Applied Multivariate Statistical Analysis*. New Jersey, Prentice-Hall International, 1988. pp 340-76.
 14. Kleinbaum D. Variable Reduction and Factor Analysis. In: *Applied Regression Analysis and other Multivariable Methods*. Kleinbaum D, Kupper L, Muller K, eds, pp.595-641, pws-KENT, 1988, Boston, USA.
 15. Pinheiro AC, Fuentes LA. Sofnut, versión 2002. Software para el procesamiento de datos de ingesta de alimentos. Sofmatica, Ltda..
 16. Duran P, Caballero B, de Onis M. The association between stunting and overweight in Latin American and Caribbean preschool children. *Food Nutr Bull.* 2006; 27: 300-5.
 17. Barría RM y Amigo H. Nutrition transition: a review of Latin American profile. *Arch Latinoamer Nutr.* 2006; 56: 3-11.
 18. Seidell JC. Epidemiology of obesity. *Semin Vasc Med.* 2005; 5: 3-14.
 19. World Health Organization. Obesity. Preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation on obesity. Geneva, June 1997.
 20. Kain J, Uauy R, Lera L, Taibo M, Espejo F, Albala C. Evolución del estado nutricional en escolares chilenos de 6 años (1987-2003). *Rev Méd Chile* 2005; 133: 1013-20.
 21. Linn SE. Food marketing to children in the context of a marketing maelstrom *J Public Health Policy.* 2004; 25: 367-78
 22. French SA, Story M, Neumark-Sztainer D, Fulkerson JA, Hannan P. Fast food restaurant use among adolescents: associations with nutrient intake, food choices and behavioral and psychosocial variables. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2001;25: 1823-33
 23. Crovetto M. Cambios en la estructura alimentaria y consumo aparente de nutrientes de los hogares del Gran Santiago 1988-97. *Rev Chil Nutr* 2002; 29(1): 24-32.
 24. Olivares S, Yáñez R, Díaz N. Publicidad de alimentos y conductas alimentarias en escolares de 5° a 8° básico. *Rev Chil Nutr* 2003; 30:36-42.
 25. Olivares S, Albala C, García F, Jofré I. Publicidad televisiva y preferencias alimentarias en escolares de la Región Metropolitana. *Rev Méd Chile* 1999; 127: 791-9
 26. FAO. Energy requirements of children and adolescents. In: *Human energy requirements: report of a joint FAO/WHO/UNU expert consultation*. Rome, 2001. pp.29-30
 27. Ministerio de Salud de Chile. Recomendaciones en la Etapa Escolar y Adolescente. Disponible en: http://www.minsal.cl/ici/nutricion/Guia_Alimentacion.pdf. Consultado en Noviembre, 2006
 28. Chile, Instituto Nacional de Estadísticas (INE) Anuario de parque de vehículos en circulación, 2005. Disponible en: www.ine.cl/canales/chile_estadistico/estadisticas_economicas/transporte_y_comunicaciones/pdf/parquedevehiculos_2005.pdf Consultado en Enero 2007
 29. Vio F. Prevención de la obesidad en Chile. *Rev Chil Nutr* 2005; 32:80-87.
 30. Graffar M. Une méthode de classification social D'Echantillons de population. *Courrier VI* 1956: 445-459.
 31. Alvarez ML, Muzzo S, Ivanovic D. Escala para medición del nivel socioeconómico en el área de salud. *Rev Méd Chile* 1985 ; 113: 243-9
 32. Velásquez E, Adela Barón M, Solano L, Páez M, Llovera D, Portillo Z. Lipid profile in Venezuelan preschoolers by socioeconomic status. *Arch Latinoamer Nutr.* 2006; 56: 22-8.

Recibido:19-03-2007

Aceptado:15-06-2007

Asociación de la longitud de segmentos corporales y de la composición corporal con la presión arterial en adultos jóvenes*

*Martha Kaufer-Horwitz, Diana Vélez-Moreno, Maribel Pérez-Raygoza, Elizabeth García-Espíndola,
Luz Ma. Goti-Rodríguez, Héctor Ávila-Rosas*

Fundación Mexicana para la Salud, Universidad Iberoamericana, Instituto Nacional de Cardiología "Dr. Ignacio Chávez, Hospital General Darío Fernández Fierro, ISSSTE, Instituto Nacional de Pediatría. México

RESUMEN. La estructura ósea y la composición corporal pueden alterarse ante agresiones en períodos críticos del crecimiento ocasionando propensión para efectos adversos posteriores. El estudio exploró la asociación de la longitud de segmentos corporales y la composición corporal con la presión arterial sistólica (PAS) y diastólica (PAD) en adultos jóvenes. Se estudiaron 166 hombres y 246 mujeres de 20-34 años. Se evaluó PAS y PAD, peso, estatura, talla sentado, perímetros (cintura, cadera), anchuras (biacromial, bicrestal) y panículos (bicipital, tricipital, subescapular, suprailíaco). Se calcularon índices de masa corporal (IMC), cintura-cadera (ICC), córmico, cintura-estatura y la sumatoria panículos-estatura. Se estimaron correlaciones de Pearson y modelos de regresión lineal por sexo para PAS y PAD. La mayoría de las correlaciones con PAS y PAD fueron significativas. La PAS y PAD se explicaron por variables de masa (peso e IMC) y óseas (anchura bicrestal) en mujeres (15.4 y el 10.8% de la varianza). En hombres, PAS y PAD se explicaron por indicadores de masa (peso), adiposidad (sumatoria de panículos) y distribución de grasa (ICC) (20% de la varianza). No se encontró asociación de indicadores de desnutrición pasada con presión arterial. La anchura bicrestal, peso e IMC en mujeres y peso, ICC y la sumatoria de panículos en hombres tuvieron asociación significativa con presión arterial. Es necesario explorar la utilidad de la anchura bicrestal para la evaluación de riesgo de hipertensión arterial en mujeres.

Palabras clave: Presión arterial, hipertensión, períodos críticos, segmentos corporales, IMC, estatura baja, anchura bicrestal.

SUMMARY. Association of body segments and body composition with blood pressure in young adults. Skeletal structure and body composition may be altered permanently in response to aggressions during critical periods of growth. This increases propensity to adverse effects in adulthood. The study explored the association of anthropometric variables of body size and proportions and of body composition with systolic (SBP) and diastolic (DBP) blood pressure (BP) in young adults. We studied 166 men and 246 women age 20-34. SBP, DBP, weight, stature, sitting height, circumferences (waist, hip), breadths (biacromial, biiliac) and skinfolds (bicipital, tricipital, subscapular, suprailiac) were assessed. BMI, waist-hip ratio (WHR), waist-stature ratio, and Σ skinfolds-stature were calculated. Pearson correlations were determined for anthropometric variables with SBP and DBP and linear regression models for SBP and DBP were developed by sex. Correlation coefficients between indicators and BP were significant, except for stature and SBP and DPB, and WHR with DBP in women; and stature with DBP, biiliac breadth and WHR with SBP, and sitting height with SBP and DPB in men. SBP and DPB were explained by weight, BMI, and biiliac breadth in multivariable analysis in women, where 15.4% and 10.8% of variance of SBP and DPB was explained. In men, SBP was explained by weight, Σ skinfolds and WHR, and DBP by Σ skinfolds; models explained almost 20% of SBP and DPB variance. No association was found between BP and past malnutrition indicators. Biiliac breadth, weight and BMI in women, and weight, WHR and Σ skinfolds in men explained BP. The use of biiliac breadth in the assessment of hypertension risk in women should be explored further. **Key words:** Blood pressure, hypertension, critical periods, body composition, BMI, short stature, biiliac breadth.

INTRODUCCION

La hipertensión arterial (HTA) es factor de riesgo para las enfermedades cardiovasculares y otras enfermedades crónicas y representa un importante problema de salud pública en México. Según los datos de la Encuesta Nacional de Nutri-

ción y Salud (ENSANUT 2006) la prevalencia de HTA en población mexicana es de 31.4% en hombres y de 30.8% en mujeres y ha aumentado en los últimos años (1). Es preocupante que la HTA ocurre cada vez a edades más tempranas, de tal manera que 10% de las mujeres y 20% de los hombres de entre 20 y 24 años son hipertensos (2). Por otra parte, uno de los principales factores de riesgo de HTA es la obesidad, la cual también ha mostrado una tendencia ascendente, se asocia con la edad y con la hipertensión arterial y se considera problema de salud pública en nuestro país (1). La prevalencia de sobrepeso y obesidad (IMC = 25) en hombres de 20 a 29

* Este trabajo fue financiado por la Subdirección de Investigación del Instituto Nacional de Perinatología y se realizó en las Clínicas de Medicina Familiar "Dr. Ignacio Chávez" y "Ermita" del ISSSTE.

años es de 51.5% y de 54.1% en mujeres. Para el grupo de 30 a 39 años, las prevalencias son de 71.4% y 74.1% para hombres y mujeres, respectivamente (1).

Se han informado en la literatura acerca de diversos factores de riesgo para la HTA, entre ellos el sexo, la edad, la obesidad, la distribución androide de grasa, la desnutrición intrauterina o temprana (3-8). Por otra parte, se han establecido asociaciones entre la presión arterial y el tamaño y la composición corporal, aunque algunas de estas relaciones son poco claras (9).

El crecimiento óseo tiene su etapa crítica en los primeros años de la vida y es consecuencia, en parte, de la nutrición temprana. Por ello, la longitud total (estatura), así como la proporción de los diversos segmentos corporales en el adulto son marcadores que reflejan el estado nutricional durante los primeros años de la vida (10). La desnutrición fetal o infantil temprana afecta permanentemente estructuras corporales y procesos metabólicos. La gravedad de sus efectos depende del momento de la agresión, siendo más vulnerables los sujetos en etapa de crecimiento rápido. Cuando la desnutrición se prolonga conduce a crecimiento insuficiente, que se traduce, entre otras manifestaciones, por una baja estatura. Las alteraciones secuenciales de adaptación que se presentan en los casos de ambientes desfavorables tienen consecuencias irreparables en el fenotipo finalmente alcanzado (11). En la desnutrición crónica, aun la marginal, la estatura se reduce a expensas del segmento inferior, y dado a que el crecimiento físico sigue una secuencia céfalo caudal, dependiendo del momento en que la carencia alimentaria haya sido más severa, la longitud del muslo y de la pierna se verán más afectados, por lo que los individuos tendrán las piernas relativamente pequeñas con relación al resto del cuerpo. Por otra parte, la complejidad puede verse comprometida y es frecuente que estos individuos afectados tengan una caja torácica mal desarrollada, con anchura biacromial estrecha (11).

La hipótesis de la "programación fetal", también conocida como Hipótesis de Barker, establece que la estructura y función de diversos órganos y tejidos se "programan" o se ven alterados en forma permanente en respuesta a las agresiones durante períodos críticos del crecimiento y del desarrollo, por lo que un tamaño pequeño al nacimiento o en la infancia se asocia con una propensión aumentada para efectos adversos en el adulto (lípidos alterados, diabetes, hipertensión arterial, entre otros) (7).

Más recientemente ha surgido un enfoque distinto o complementario, con una perspectiva que incluye tanto a las agresiones durante períodos críticos mencionadas anteriormente; así como a agresiones o exposiciones (a ambientes potencialmente dañinos, sean físicos o sociales) que se van acumulando durante el curso de la vida a través de episodios de enfermedad u otras condiciones adversas y que poco a poco van aumentando el riesgo de enfermedad. Este enfoque permite, a diferencia del primero, reconocer la importancia de los he-

chos que transcurren a lo largo de la vida y que pueden modular el riesgo de desarrollar enfermedades crónicas en etapas posteriores y reconoce que la programación crea predisposiciones y vulnerabilidades que irán interactuando con las experiencias ocurridas durante todo el curso de la vida (13). En este sentido, se ha sugerido que la nutrición temprana programa el desarrollo de factores de riesgo tales como la elevación de la presión arterial y de esta manera propicia la enfermedad coronaria en el adulto. Diversos estudios (38 estudios en ocho países) de niños que presentaron una longitud pequeña para la edad gestacional y durante la infancia, sugieren que en la edad adulta presentan riesgos incrementados de hipertensión arterial, factor de riesgo asociado a la enfermedad cardiovascular y a la diabetes mellitus (14,15). La información referente a la relación que existe entre los segmentos corporales y los valores de presión arterial es escasa y sujeta a controversia. Por lo anterior el objetivo del presente estudio es explorar la asociación entre variables antropométricas óseas y de composición corporal con la presión arterial sistólica y diastólica en adultos jóvenes.

MATERIALES Y METODOS

Sujetos

Se estudiaron 166 hombres y 246 mujeres de 20 a 34 años de edad asistentes a las Clínicas de Medicina Familiar "Dr. Ignacio Chávez" y "Ermita" del Instituto de Seguridad Social al Servicio del los Trabajadores del Estado (ISSSTE) que aceptaron participar de manera libre e informada y que dieron su consentimiento por escrito. Se incluyeron sujetos aparentemente sanos. Se excluyeron los sujetos con fiebre, infección o enfermedades catabólicas o que se hubieran sometido a dietas de reducción de peso en los últimos 6 meses. Asimismo, se excluyeron las mujeres embarazadas, lactantes o que dieron a luz en los seis meses previos al inicio del estudio. Se eliminaron los casos con datos incompletos o inconsistentes. El protocolo de investigación cumple con los lineamientos del Reglamento de La Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud de México y con la Declaración de Helsinki (52ª Asamblea General, Edimburgo, Escocia, Octubre 2000) y fue aprobado por el Comité de Investigación y de Ética del ISSSTE.

Procedimientos

a.- La presión arterial sistólica (PAS) y la diastólica (PAD) se midieron de acuerdo con los estándares internacionales (16) y a la Norma Oficial Mexicana para la prevención, tratamiento y control de la hipertensión arterial (Norma Oficial Mexicana NOM-030-SSA2-1999) por personal previamente capacitado y homogeneizado. Se utilizó un esfigmomanómetro de columna de mercurio y la medición se llevó a cabo con los sujetos en posición sentada,

después de 5 minutos de reposo y se registró con una precisión de 2 mmHg. Se utilizó un brazalete estándar. La presión sistólica se basó en la fase I de Korotkoff y la presión diastólica en la desaparición del quinto ruido de Korotkoff. La evaluación de la presión arterial se hizo por duplicado con al menos 2 minutos de diferencia entre la primera y la segunda mediciones. Cuando la diferencia entre ambas mediciones (ya fuera en la presión sistólica o en la diastólica) fue de más de 5 mmHg se hizo una tercera medición y se promediaron las dos más cercanas.

- b- La evaluación antropométrica consistió en la medición del peso, la estatura, la talla sentado, los perímetros de cintura y de cadera, las anchuras biacromial y bicrestal y los pániculos bicipital, tricipital, subescapular y suprailíaco. Todas las mediciones se ajustaron a los estándares aceptados internacionalmente (17). La homogeneización de los observadores se llevó a cabo mediante el procedimiento recomendado por Habicht (18). La evaluación antropométrica se llevó a cabo con una bata ligera diseñada ex profeso para el estudio y sin zapatos. El peso se midió en una báscula digital computarizada con precisión de 50 g. La estatura y la talla sentada se midieron mediante un estadiómetro portátil al 0.1 cm. más cercano. Los perímetros de cintura y de cadera se midieron al 0.1 cm. más cercano con una cinta antropométrica delgada de fibra de vidrio. Las anchuras se midieron con un antropómetro de ramas largas con precisión de 0.1 cm. Los pániculos adiposos se evaluaron mediante plicometría al 0.1 mm. más cercano. Todas las mediciones se realizaron por duplicado. Cuando se superó la diferencia máxima permitida (50 g para peso, 0.5 cm. para estatura, talla sentado y perímetros, 0.3 cm. para anchuras y 1 mm. para pliegues) se tomó una tercera medición y se promediaron las dos más cercanas (19). A partir de las mediciones anteriores se calcularon el índice de masa corporal (IMC) (peso en kg / estatura², en metros elevados al cuadrado) y el índice cintura-cadera (ICC) (perímetro de cintura/circunferencia de cadera, ambos en cm.), el índice córico (talla sentado en cm. / estatura en cm.), el índice cintura-estatura (perímetro de cintura en cm. / estatura en cm.), la sumatoria (Σ) de 4 pániculos, en mm. y el índice sumatoria de 4 pániculos-estatura (Σ de 4 pániculos en mm. / estatura en cm.).

Análisis estadístico

Se conformó una base de datos en el programa SPSS con la información recabada, misma que se verificó para detectar y corregir posibles errores de transcripción y eliminar los casos con información faltante o inconsistente. La información se analizó por sexo utilizando estadística descriptiva. Se calcularon los coeficientes de correlación de Pearson para establecer las correlaciones entre PAS y PAD con los indicadores antropométricos. Se estimaron modelos de regresión lineal

múltiple por pasos sucesivos para evaluar los factores de riesgo para la presión arterial sistólica y diastólica en hombres y mujeres, donde la edad y las variables antropométricas fueron las variables independientes. Se fijó la significancia estadística a una $p < 0.05$ y la estabilidad de las estimaciones se vio representada en los intervalos de confianza del 95%. El análisis estadístico se llevó a cabo con el apoyo del paquete estadístico SPSS (SPSS Inc., Chicago IL).

RESULTADOS

La prevalencia de sobrepeso en la población de estudio fue de 42.2% para hombres y de 32.5% para mujeres; de obesidad fue de 10.2% en hombres y de 11.0% en mujeres. Dado que se trató de una población joven, la prevalencia de hipertensión arterial fue baja: 3.6% en hombres y 0.8% en mujeres, aunque las cifras de sobrepeso y obesidad son altas.

En la Tabla 1 se presenta la descripción general de las variables antropométricas de proporcionalidad corporal de hombres y mujeres, así como los coeficientes de correlación de Pearson de éstas con PAS y PAD. En promedio, la PAS y la PAD se encontraron dentro de los límites normales en hombres y en mujeres, aunque, como era de esperarse, fue mayor en los hombres. En general, los indicadores antropométricos se encontraron dentro de lo esperado para el grupo de edad. Sin embargo, los indicadores de masa o reserva adiposa presentaron valores altos en hombres y mujeres. La media del IMC fue indicativa de sobrepeso en ambos sexos. De igual manera, el perímetro de cintura promedio fue alto - aunque dentro de lo considerado como normal- en el caso particular de las mujeres.

El análisis de correlación mostró que, en general, las variables antropométricas presentan coeficientes de correlación de Pearson altamente significativos con PAS y PAD. En el caso de las mujeres esto se presentó en todas las variables exploradas con excepción de la estatura con PAS y PAD y el índice cintura-cadera con PAD. Para los hombres, se encontraron también correlaciones estadísticamente significativas de las variables antropométricas con la presión arterial, con excepción de la estatura con PAD, la talla sentado con PAS y PAD, la anchura bicrestal con PAS y el índice cintura-cadera con PAS. Cuando las correlaciones fueron estadísticamente significativas, éstas presentaron valores de p muy inferiores a 0.05. En términos de complejidad o proporcionalidad es interesante notar que las mujeres presentaron anchuras biacromiales menores que los hombres (35.9 cm. vs. 40.7 cm.), mientras que las anchuras bicrestales fueron más parecidas entre ambos (28.5 cm. vs. 29.7 cm.); sin embargo, debido a que la estatura de las mujeres es aproximadamente 13 cm. menor que la de los hombres, proporcionalmente las mujeres tienen una anchura bicrestal mayor, lo que es una característica sexual secundaria. La anchura bicrestal en las mujeres presentó una correlación significativa con PAS, mientras que este no fue el caso en los varones.

TABLA 1
Descripción de las características físicas, antropométricas y de la presión arterial y coeficientes de correlación de Pearson de las mujeres (n=246) y los hombres (n=166) del estudio

	Media	d.e.	Correlación de Pearson	
			Presión sistólica R	Presión diastólica R
MUJERES				
Presión sistólica (mmHg)	106.2	10.0		
Presión diastólica (mmHg)	69.1	7.8		
Peso (kg)	61.8	11.3	0.351***	0.287***
Estatura (cm)	156.5	5.4	0.088	0.019
Índice de masa corporal	25.3	4.3	0.333***	0.301***
Talla sentado (cm)	83.8	3.3	0.211***	0.164**
Índice córmico	53.6	1.8	0.159**	0.175**
Anchura biacromial (cm)	35.9	1.8	0.250***	0.169**
Anchura bicrestal (cm)	28.5	2.9	0.349***	0.271***
Perímetro de cintura (cm)	79.0	10.8	0.336***	0.258***
Perímetro de cadera (cm)	97.8	8.7	0.307***	0.283***
Índice cintura-cadera	0.80	0.07	0.196**	0.105
Índice cintura-estatura	50.5	7.1	0.307***	0.205***
Sumatoria 4 panículos (mm)	78.2	22.2	0.325***	0.297***
Índice sumatoria panículos-estatura	0.50	0.14	0.314***	0.298***
HOMBRES				
Presión sistólica (mmHg)	116.9	9.9		
Presión diastólica (mmHg)	75.8	7.4		
Peso (kg)	73.5	12.3	0.390***	0.367***
Estatura (cm)	169.6	5.7	0.195**	0.084
Índice de masa corporal	25.4	3.6	0.358***	0.383***
Talla sentado (cm)	89.4	3.8	0.012	-0.088
Índice córmico	52.7	2.1	-0.149*	-0.164*
Anchura biacromial (cm)	40.7	2.5	0.252**	0.216**
Anchura bicrestal (cm)	29.7	3.4	0.118	0.191**
Perímetro de cintura (cm)	87.2	10.2	0.233**	0.299***
Perímetro de cadera (cm)	97.6	7.0	0.359***	0.331***
Índice cintura-cadera	0.89	0.06	0.030	0.175*
Índice cintura-estatura	51.4	5.8	0.184**	0.285***
Sumatoria 4 panículos (mm)	61.5	21.6	0.312***	0.442***
Índice sumatoria panículos-estatura	0.36	0.12	0.295***	0.439***

* p < 0.05, ** p < 0.01, *** p < 0.001

Los referentes óseos y marcadores de estado nutricio pasado (talla sentado, índice córmico, y anchuras biacromial y bicrestal) presentaron correlaciones estadísticamente significativas con la PAS y la PAD en las mujeres y en hombres del estudio (con excepción de la anchura biacromial con la PAS en hombres). Por otra parte, llama la atención la correlación negativa entre el índice córmico y la PAS y PAD en hombres. En general las correlaciones fueron mayores para los hombres aunque la significancia estadística de las correlaciones fue mayor para las mujeres. Las asociaciones más significativas en las mujeres fueron el peso, el IMC y la sumatoria de panículos, mientras que en los varones se encontraron cinco indicadores con estas características: peso, IMC, perímetro de cadera, sumatoria de panículos y el índice sumatoria de panículos-estatura. En este sentido, los indicadores más consistentes en ambos sexos fueron el peso, el IMC y la sumatoria de panículos.

Es interesante notar que para la PAS la correlación más alta se estableció con peso, tanto en hombres como en mujeres, aunque también se identificaron correlaciones altas con IMC para ambos sexos. La situación no fue igual para la PAD, donde el IMC estableció correlaciones mayores a las del peso en ambos sexos; sin embargo, en hombres la sumatoria de 4 panículos –y no el peso– presentó la correlación más alta. Si se consideran las 5 correlaciones más altas, las mismas 5 variables se asocian con PAS y PAD en hombres, mientras que en mujeres la coincidencia entre PAS que para PAD es sólo en tres: peso, IMC y sumatoria de 4 panículos. En general, en las mujeres las correlaciones de las variables exploradas fueron más altas con PAS que con PAD, con excepción del índice córmico. Esto no se observó en los hombres, donde las correlaciones más altas se observaron con PAD en 7 de 13 variables. Es de llamar la atención que en hombres, el perí-

metro de cadera presentó correlaciones más altas que la cintura para PAS y PAD y en mujeres para PAD. Por otra parte, al parecer el índice cintura-estatura no mejora la capacidad de asociación que tiene la circunferencia de la cintura, pues en todos los casos las correlaciones fueron inferiores para el índice que para la circunferencia.

En la Tabla 2 se muestran los modelos de regresión lineal para PAS y PAD en hombres y mujeres de 20 a 34 años de edad. En los cuatro modelos regresión para la PAS y PAD en hombres y mujeres entraron las variables que presentaron las correlaciones simples más altas, con excepción de la anchura bicrestal. No entraron a los modelos de regresión la estatura (era de esperarse pues no mostró correlación con la presión arterial en el análisis bivariado), ni el índice córico, ambos indicadores de desnutrición en el pasado. Sin embargo, la anchura bicrestal participó en los modelos de PAS y PAD en las mujeres. En este caso, la anchura bicrestal tuvo una menor relación con el peso y el IMC y por lo mismo entró a los modelos explicativos de PAS y PAD. Al igual que en el caso de las correlaciones de las variables óseas y de composición corporal con los valores de presión arterial, los modelos de regresión lineal fueron más altos en el caso de los hombres. Esto se aprecia al comparar los valores de R^2 para PAS y PAD entre hombres y mujeres (para PAS 0.209 vs. 0.154 y para PAD 0.196 vs. 0.108 para hombres y mujeres, respectivamente).

TABLA 2

Modelos de regresión lineal para la presión arterial sistólica y diastólica en mujeres y hombres de 20 a 34 años de edad

Variables en el modelo	Intervalos de confianza del 95%				R	R ²
	beta	beta ajustada	Inferior	Superior		
MUJERES						
Presión sistólica						
Peso	0.198	0.224	0.071	0.324		
Anchura bicrestal	0.729	0.217	0.248	1.210	0.393	0.154
Constante	73.185		61.975	84.394		
Presión diastólica						
Índice de masa corporal	0.394	0.218	0.139	0.650		
Anchura bicrestal	0.406	0.154	0.032	0.781	0.328	0.108
Constante	47.634		38.543	56.726		
HOMBRES						
Presión sistólica						
Peso	0.452	0.560	0.315	0.588		
Índice cintura-cadera	-49.703	-0.294	-78.26	-21.147	0.457	0.209
Constante	128.081		106.736	149.425		
Presión diastólica						
Sumatoria 4 panículos	0.152	0.442	0.104	0.199	0.442	0.196
Constante	66.477		63.384	69.570		

Variables independientes: estatura, anchuras biacromial y bicrestal, perímetros de cintura y cadera, talla sentado, peso, índice de masa corporal, índice cintura-cadera, índice córico, sumatoria de panículos, índice sumatoria de panículos-estatura, edad.

Es particularmente interesante el caso de las mujeres donde la PAS y PAD son explicadas por variables de masa (peso e IMC) y de complejión u óseas (anchura bicrestal). En mujeres, los modelos de PAS y PAD permitieron explicar el 15.4 y el 10.8% de la varianza de PAS y PAD, respectivamente. Para ejemplificar los modelos obtenidos, por cada kilogramo de peso la PAS aumenta 0.198 mmHg y por cada centímetro de anchura bicrestal el aumento es de 0.729 mmHg; además, por cada unidad de aumento del IMC la PAD aumenta 0.394 mmHg. Cabe aclarar que el diámetro bicrestal, por ser referente óseo, no es modificable mientras que el peso sí lo es. Para el caso de los hombres, la PAS se explica por indicadores de masa (peso), de adiposidad (sumatoria de 4 panículos) y de distribución de grasa (ICC). Llama la atención que el ICC haya participado en el modelo dado que en el análisis bivariado no presentó una correlación estadísticamente significativa con PAS. Además, contrariamente con lo esperado, los valores de beta y de beta ajustada para el ICC tienen signo negativo, indicando una relación inversa del índice con la PAS; esto puede atribuirse a que, tratándose de un índice, su variación depende de las relativas desproporciones entre las dos medidas originales (cintura y cadera). Por otra parte es claro que mientras las dos circunferencias tienen una fuerte asociación con el peso, al ICC no le pasa lo mismo y la relativa independencia de las circunferencias de cintura y de cadera lo hace significativo en la regresión. En los hombres, los modelos para PAS y PAD explicaron casi el 20% de la varianza de la presión arterial. Se observó que por cada kilogramo de peso la PAS aumenta en 0.452 mmHg y por cada milímetro de aumento en la sumatoria de cuatro panículos, la PAD aumenta 0.152 mmHg.

DISCUSION

En el presente estudio se encontró asociación entre los indicadores antropométricos de composición y proporcionalidad corporal y la presión arterial sistólica y diastólica en un grupo de hombres y mujeres de 20 a 34 años de edad. Esto se refleja en los modelos de regresión resultantes. La anchura bicrestal entró a los modelos de regresión lineal para PAS y PAD en mujeres, después de las variables de masa (peso en PAS e IMC en PAD). En el caso de los hombres, las variables explicativas de PAS y PAD fueron de masa (peso), de reserva de tejido adiposo (Σ de 4 panículos) y de distribución (índice cintura-cadera). Contrariamente a lo informado por diversos autores (14,20), no se encontró correlación entre la estatura y la presión arterial, con excepción de PAS en hombres. Cabe destacar que los resultados del estudio posiblemente están matizados por la alta prevalencia de sobrepeso y obesidad en la población de estudio.

Facchini *et al* (21) encontraron una asociación débil pero estadísticamente significativa entre la anchura biacromial y

la presión arterial. Además, su trabajo indica que existe una asociación de las anchuras bicrestal y el biacromial con algunos índices de adiposidad. El presente estudio encontró también esta asociación con la presión arterial, con coeficientes de correlación de Pearson estadísticamente significativos ($p < 0.01$ a $p < 0.001$) en hombres y en mujeres (con excepción de la anchura bicrestal en hombres). Por otra parte, hay que resaltar que el diámetro bicrestal es un indicador que necesariamente influye en la circunferencia de la cadera, aunque en este caso se asoció positivamente con los valores de presión arterial.

Cabe destacar que, como reflejo de la situación nacional, la población de estudio presentó una alta prevalencia de sobrepeso y obesidad, aunque inferior a la prevalencia nacional y el IMC promedio en hombres y mujeres fue mayor de 25. Lo anterior no representa una limitación en términos de validez de nuestros hallazgos dado que se han encontrado asociaciones similares en estudios en otras poblaciones con altas prevalencias de obesidad. En estudios aislados se ha sugerido que los individuos con estatura baja tienen un mayor riesgo de desarrollar enfermedades cardiovasculares (15, 23-26). En un estudio realizado en Noruega por Han *et al* (14), la estatura presentó una asociación inversa con las enfermedades cardiovasculares, y se postuló a la estatura baja como marcador de condiciones desfavorables durante los primeros años de vida que, aunado al estilo de vida en el adulto, contribuyen para aumentar el riesgo cardiovascular. Por otra parte, en estudios bien controlados como el de los médicos, el de las enfermeras y en las mujeres del estudio de Framingham en Estados Unidos de América se ha constatado la relación entre la estatura baja y la enfermedad cardiovascular (26). Rimm *et al* (27) encontraron, en esa población, un riesgo relativo significativo de 0.67 para eventos coronarios al comparar el quintil de estatura más bajo con el más alto. Cox *et al* (28) no encontraron una asociación entre la estatura y la HTA y Sichieri *et al* (26) encontraron la asociación sólo en mujeres. Jousilahti *et al* (20) informaron que por cada centímetro adicional de estatura el riesgo de mortalidad aumentó 2%. Una posible explicación de estas discrepancias es que la relación inversa entre la estatura y la presión arterial pueden ser evidentes sólo en poblaciones donde la estatura baja es un marcador importante de desnutrición temprana (26,27). Otra posible explicación es que los efectos tardíos de la desnutrición en la infancia se manifiesten más adelante y no en edades adultas tempranas, aunque Yin Bun C *et al* (29) informan que el efecto de las alteraciones del crecimiento sobre los valores de presión arterial se manifiesta ya a los 30 años de edad.

Los hallazgos del presente estudio parecen indicar que al definir el sobrepeso en términos de la asociación entre el peso y la presión arterial, en el caso de los hombres, es el porcentaje de peso corporal atribuido a la grasa, así como su distribución centrípeta los que se correlacionan más cercanamente a la presión arterial y no simplemente el peso corporal o el IMC

(30). Así, se encontró que la presión arterial se asoció con indicadores de masa y de grasa (magnitud y distribución) en los hombres; aunque no en las mujeres. Es posible que las particularidades que existen entre hombres y mujeres en torno a la proporcionalidad corporal, es decir, el dimorfismo sexual, sean parcialmente responsables de estas diferencias. A pesar de que los valores absolutos de la anchura bicrestal fueron similares en ambos sexos, la estatura promedio de las mujeres fue 13 cm. menor que la de los varones. Esto hace que, proporcionalmente a la estatura, las mujeres tengan anchuras bicrestales más amplias y concuerda con el fenotipo femenino esperado. Así, en el presente estudio se encontró que la correlación de la anchura bicrestal con la estatura fue menor en mujeres que en hombres (0.206 vs. 0.355 con $p < 0.001$ y $p < 0.01$, respectivamente). Los modelos de regresión para PAS y PAD en hombres se comportan de acuerdo a lo planteado anteriormente (30).

Las asociaciones encontradas en el presente análisis resultan interesantes si se considera que la medición de puntos óseos es más confiable y de más sencilla instrucción que las otras mediciones antropométricas, como por ejemplo los perímetros y los panículos, aunque se requiere equipo menos accesible como los antropómetros o segmómetros. Sin embargo, cabe recordar que en el pasado se consideraba a los plicómetros y a las cintas antropométricas como material especializado de uso poco frecuente para la evaluación general del estado de nutrición y empezaron a utilizarse de manera más amplia ante la demostración de su utilidad práctica en la evaluación del estado nutricional. El presente estudio sugiere la utilidad de la medición de algunos puntos óseos (la anchura bicrestal, particularmente en mujeres) en la evaluación del riesgo de hipertensión arterial en adultos jóvenes. De comprobarse esto en estudios subsiguientes se tendría la ventaja de que las técnicas de medición de referentes óseos son más sencillas y están menos sujetas a errores técnicos que los perímetros y los panículos. A pesar de documentarse la asociación entre los indicadores óseos y de composición corporal con los valores de presión arterial sistólica y diastólica, los resultados del análisis multivariado no respaldan la relación de los indicadores de desnutrición pasada (índice córmico, talla sentado, estatura) con la presión arterial en la población estudiada.

AGRADECIMIENTOS

A Jennifer Arjona, Ivette Barragán, Mariana Gómez, Paulina Lazzeri, Judith Martínez y Karla Peláez, por su participación en la fase de campo. A los doctores Elizabeth Tejero, Luis Alberto Vargas y Julieta Aréchiga y a la enfermera Cristina Ramírez por su participación en la fase de estandarización de las mediciones antropométricas y de la presión arterial. A las Clínicas “Dr. Ignacio Chávez” y “Ermita” del ISSSTE por el apoyo recibido para realizar el estudio.

REFERENCIAS

1. Olaiz-Fernández G, Rivera-Dommarco J, Shamah-Levy T, Rojas R, Villalpando-Hernández S, Hernández-Ávila M, Sepúlveda-Amor J. *Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2006*. Cuernavaca, México: Instituto Nacional de Salud Pública, 2006.
2. Velázquez Monroy O, Rosas Peralta M, Lara Esqueda A, Pastelín Hernández G, Grupo ENSA 2000, Attie F, Tapia Conyer R. Hipertensión arterial en México: Resultados de la Encuesta Nacional de Salud (ENSA) 2000. *Arch Cardiol Mex* 2002;72:71-84.
3. Wilsgaard T, Schirmer H, Arnesen E. Impact of body weight on blood pressure with a focus on sex differences. The Tromsø study, 1986-1995. *Arch Intern Med* 2000;160:2847-53.
4. Doll S, Paccaud F, Bovet P, Burnier M, Wietlisbach V. Body mass index, abdominal adiposity and blood pressure: consistency of their association across developing and developed countries. *Int J Obes* 2002;26:48-57.
5. Moore V, Davies M. Early life influences on later health: the role of nutrition. *Asia Pacific J Clin Nutr* 2001;10(2): 113-7.
6. Godfrey KM, Barker JP. Fetal nutrition and adult disease. *Am J Clin Nutr* 2000;71(suppl):1344S-52S
7. Barker DJP. Fetal origins of coronary heart disease. *BMJ* 1995; 311:171-4.
8. Flegal AM. Obesity, overweight, hypertension, and high blood cholesterol: the importance of age (Editorial). *Obes Res* 2000;8:676-7
9. Wilks RJ, McFarlane-Anderson N, Bennett FI, Reid M, Forrester TE. Blood pressure in Jamaican children: relationship to body size and composition. *West Indian Med J* 1999;48:61-8
10. Ruel MT, Habicht JP, Rasmussen KM, Martorell R. Screening for nutrition interventions: the risk of the differential-benefit approach? *Am J Clin Nutr* 1996;63:671-7.
11. Ramos Rodríguez RM. Crecimiento y proporcionalidad corporal en adolescentes mexicanas. México: Universidad Nacional Autónoma de México (Instituto de Investigaciones Antropológicas, Serie Antropológica No. 49) 1986:15-42.
12. Ramos Galván R. Efecto del ambiente sobre el crecimiento y desarrollo físico. *Bol Med Hosp Infant (Mex)* 1970;27:419-34. En: Ramos Rodríguez RM. Crecimiento y proporcionalidad corporal en adolescentes mexicanas. México: Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Investigaciones Antropológicas, Serie Antropológica No. 49; 1986. p. 15-42.
13. Kuh D, Ben Shlomo Y. Introduction: a life course approach to the aetiology of chronic disease. En: Kuh D, Ben Shlomo Y, editors. *A life course approach to chronic disease epidemiology*. Oxford: Oxford University Press; 1997. p. 3-14.
14. Han TS, Hooper JP, Morrison CE, Lean ME. Skeletal proportions and metabolic disorder in adults. *Eur J Clin Nutr* 1997;51:804-9
15. Barker DJ, Shiell AW, Barker ME, Law CM. Growth *in utero* and blood pressure levels in the next generation. *J Hypertens* 2000;18:843-46.
16. Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, Cushman WC, Green LA, Izzo JL, Jr, Jones DW, Materson BJ, Oparil S, Wright JT, Jr, Roccella EJ, and the National High Blood Pressure Education Program Coordinating Committee. Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. *Hypertension* 2003;42:1206-52.
17. Lohman T, Roche A, Martorell R, editores. Anthropometric standardization reference manual. Champaign, Illinois: Human Kinetics Books; 1988. p. 3-8, 39-70.
18. Habicht JP. Estandarización de métodos epidemiológicos cuantitativos sobre el terreno. *Bol Of Sanit Panam* 1974;76:375-85.
19. Fidanza F. Nutritional Status Assessment. A manual for population studies. London; Chapman & Hall, 1991: 1-44.
20. Jousilahti P, Tuomilehto J, Vartiainen E, Eriksson J, Puska P. relation of adult height to cause-specific and total mortality: a prospective follow-up study of 31,199 middle-age men and women in Finland. *Am J Epidemiol* 2000;151:1112-20.
21. Facchini F, Fiori G, Tosselli S, Pettener D, Battistini N, Bedogni G. Is elbow breadth a measure of frame size in non-Caucasian populations? A study in low- and high-altitude Central-Asia populations. *Int J Food Sci Nutr* 2003;54:21-6.
22. Sichieri R, Siqueira KS, Moura AS. Obesity and abdominal fatness associated with undernutrition early in life in a survey in Rio de Janeiro. *Int J Obes* 2000;24:614-18.
23. Kortelainen M-L, Särkioja T. Coronary atherosclerosis associated with body structure and obesity in 599 women aged 15 and 50 years. *Int J Obes* 1999;23:838-44.
24. Wannamethee AG, Shaper AG, Whincup PH, Walker M. Adult height, stroke and coronary heart disease. *Am J Epidemiol* 1998;148:1069-76.
25. Parker DR, Lapane KL, Lasater TM, Carleton RA. Short stature and cardiovascular disease among men and women from two southeastern New England communities. *Int J Epidemiol* 1998;27:970-7.
26. Sichieri R, Siqueira KS, Pereira RA, Ascherio A. Short stature and hypertension in the city of Rio de Janeiro, Brazil. *Public Health Nutr* 2000;3:77-82.
27. Rimm E, Stampfer MJ, Giovannucci E, Ascherio A, Spiegelman D, Colditz GA, Willett W. Body size and fat distribution as predictors of coronary heart disease among middle-aged and older US men. *Am J Epidemiol* 1995;141:1117-27.
28. Cox BD, Whichelow MJ, Ashwell M, Prevost AT, Lejeune SRE. Association of anthropometric indices with elevated blood pressure in British adults. *Int J Obes* 1997;21:674-80.
29. Yin Bun Cheung, Low L, Osmond C, Barker D, Karlberg J. Fetal growth and early postnatal growth are related to blood pressure in adults. *Hypertension*. 2000;36:795-800.
30. McCarron DA, Reusser ME. Body weight and blood pressure regulation. *Am J Clin Nutr* 1996; 63(suppl):430S-2S.

Recibido: 28-03-2007

Aceptado: 15-07-2007

Comparison of the anthropometric and biochemical variables between children and their parents

Juliana Farias de Novaes, Sylvia do Carmo Castro Franceschini, Sílvia Eloiza Priore

Federal University of Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, Brazil

SUMMARY. The objective of this study was to compare the anthropometry, body composition and biochemical profile between eutrophic and obese children, as well as to relate the children's nutritional state and body composition to those of their respective parents. A control-case study was carried out with 50 eutrophic and 50 obese children paired according to gender, age, socioeconomic condition, and selected from the nutritional evaluation of 2 074 children aged 6 to 8 years, attending public and private urban schools in Viçosa, Minas Gerais, Brazil. The measurements evaluated were weight, height, circumferences (waist and hip) and thickness skinfolds (triceps and subscapular). The serum levels of glucose, total-cholesterol, HDL, LDL, triglycerides and hemoglobin in the children were evaluated. The obese children presented a larger body size and higher percentage for total body fat as well as its accumulation in the central region, and higher serum levels for triglycerides ($p < 0.05$). For all biochemical parameters, except for hemoglobin and HDL, there occurred a positive correlation with the located fat in the central region as well as with the total body fat in children ($p < 0.05$). The obese mothers showing high percentage of body fat and its accumulation in the central region rather tend to have children with these characteristics ($p < 0.05$). The highest number of the close relatives who are obese and present dyslipidemia is highlighted in the obese children ($p < 0.05$). This study evidences the differences concerning to the distribution of the body fat and lipid profile among eutrophic and obese children, as well as the strong influence of the maternal obesity upon child's obesity.

Key words: Nutritional status, body composition, child, parents, hyperlipidemias, obesity.

INTRODUCTION

Obesity is considered as an emerging problem of public health in Brazil and worldwide. It is one of the main nutritional problem occurring in children, since it can lead to serious negative consequences for the physical and mental health. In addition, it is considered as predictor for obesity in the adult life, besides causing a risk situation which can lead to increased mortality as a cause associated to the atherosclerotic disease, hypertension, and metabolic alterations. The association between

RESUMEN. Comparación de las variables antropométricas y bioquímicas entre niños y sus padres. El objetivo de este estudio fue comparar la antropometría, composición corporal y el perfil bioquímico entre niños eutróficos y obesos y, además relacionar el estado nutricional y la composición corporal de los niños con los de sus respectivos padres. Se realizó un estudio caso control con 50 niños eutróficos y 50 obesos, pareadas de acuerdo con el sexo, de la edad y condiciones socioeconómicas, y seleccionados a partir de una evaluación nutricional de 2074 niños entre los 6 a 8 años, matriculados en escuelas urbanas públicas y privadas de la ciudad de Viçosa, Minas Gerais, Brasil. Las medidas evaluadas fueron el peso, estatura, circunferencias (cintura y cadera) y pliegues cutáneos (tricipital y subescapular). Los niveles de glucosa, colesterol total, HDL, LDL, triglicéridos y hemoglobina también fueron evaluados. Los niños obesos presentaron mayor tamaño corporal (IMC) y porcentaje de grasa total, así como predominio de grasa en la región central, y valores superiores de triglicéridos ($p < 0.05$). Para todos los parámetros bioquímicos, excepto la hemoglobina y el HDL, hubo correlación positiva con la grasa localizada en la región central y grasa corporal total en los niños (< 0.05). Las madres obesas que presentaron elevado porcentaje de grasa corporal y acúmulo de grasa en la región central tienden a tener hijos con estas mismas características ($p < 0.05$). Un mayor número de familiares obesos y con dislipidemias fue observado en los niños obesos ($p < 0.05$). Este estudio evidencia diferencias en cuanto a la distribución de la grasa corporal y perfil lipídico entre niños eutróficos y obesos, así como la fuerte influencia de la obesidad materna sobre la obesidad en los niños.

Palabras clave: Estado nutricional, composición corporal, niños, padres, hiperlipidemias, obesidad.

obesity and dyslipidemia observed in adults has been also documented in children and teenagers (1). According to Freedman et al. (2), when the overweight school children were compared with their respective thinner pairs, they presented 2.4 to 7.1 times higher probability to have an elevated total cholesterol, LDL-cholesterol, triglycerides and blood pressure as well as 12.6 times higher probability to have hyperinsulinemia. It is worth to emphasize that the visceral fatty tissue is exclusively related to risk factors, such as the altered insulin and lipid profile in children, which can contribute to the development of the insulin resistance syndrome at precocious ages, which comprises several risk factors for the emergence of cardiovascular diseases in the adult life (3).

Study financed by: FAPEMIG (Research Supporting Foundation of Minas Gerais State)

The childhood obesity is considerably present in the industrialized countries, whereas the parents' obesity is one of the stronger risk factors. This fact is explained by the genetic factor, as well as by the environmental family influences (4). Scaglioni et al. (5) verified that the parents' overweight was the highest risk factor for childhood obesity, as being the overweight prevalence in 5 years-old children significantly higher in those with overweight parents than in the ones whose parents did not present overweight (37.3% vs 8.3% respectively, $p < 0.001$). Reis et al. (6) observed that child-parent association was strong for obesity and abdominal adiposity. Parents of obese children were at 6 times higher odds of being obese than parents of non obese children. Similarly, parents of children who had abnormally large waist circumferences were themselves at 6 times higher odds of having abdominal adiposity. According to the authors, because children access primary care is more frequently than adults, children can potentially serve as the index case to identify families at increased risk of obesity.

In this context, this study was carried out to compare the anthropometry, body composition and biochemical profile among eutrophic and obese children, as well as to relate the children's nutritional state and body composition to those of their respective parents.

METHODS

According to the General Education Office in Minas Gerais State (MG), Viçosa county, Brazil, totalizes 26 urban schools (19 public and 7 private) attending children at the age range from 6 to 8 years. All school children aged 6 to 8 years ($n = 2074$) who were enrolled in the respective schools which spontaneously accepted to participate in the study, were weighed and measured. Only one public school had no participation in this study because it was not authorized by the school direction. The body mass index (BMI) was calculated from the weight and height measures conducted in appropriate places at the respective schools. From the percentiles corresponding to this index and according to the age and gender, the children's nutritional state were defined according to the anthropometrical reference provided by the Center for Disease Control and Prevention (7). The cutting points used for the classification of obesity (\geq percentile 95) was based on the classification proposed by Must et al. (8). However, only the obese children showing BMI/age equal or superior to the percentile 96 were included in the sample, because the increased specificity of cutting point reduces the possibility to obtaining false-positive children in the sample.

This is a case-control study, in which the obese children were selected from the anthropometrical evaluation conducted in schools. These children were paired with the eutrophic at the proportion 1:1, according to gender, age and classroom,

as well as school and socioeconomic condition. Only the obese children showing BMI/age equal or superior to the percentile 96 were included in the sample. The criterion for selecting the eutrophic ones ($5 \leq \text{BMI/age} < 85$) was based on the random choice of children with the same gender, age and classroom of the obese ones. From the total children (2,074) under evaluation, 58 (2.8%) were classified as obese (\geq percentile 96). Eight obese children were lost (6.9%), consequently, their eutrophic pairs ($n = 8$) were not evaluated. The lost of 8 obesity children occurred because the mothers informed that the children were already receiving nutritional assistance for another professional and there would not be need of the participation in the study (2); the mothers informed unavailability of time to participate in the study (4) and alteration of the children's nutritional status of obesity for overweight between the moment of the selection of the sample and the beginning of the collection of data ($n=2$). Thus, the sample consisted of 50 obese and 50 eutrophic children.

From the selection of the obese and eutrophic children groups by the BMI/age, their parents were invited by telephone to participate in the study and scheduled a personal encounter for evaluation. In this encounter, the consent term was presented and explained, and a written authorization for children's participation was solicited to their parents. Those parents and children who spontaneously accepted to participate in this study attended for the data collection in the Nutritional Evaluation Laboratory pertaining to the Nutrition and Health Department, Federal University of Viçosa.

For ethical reasons, in spite of the fact that the study was intended for obese and eutrophic children, mothers whose children presented low weight and overweight were informed about their children's nutritional status and directed to the public health service where they received nutritional assistance. Besides, after collecting all necessary information for the accomplishment of the study by research participants, all children and their parents were given specific nutritional orientation aiming at the improvement of both feeding habit and lifestyle, according to their nutritional state and body composition previously diagnosed.

The whole anthropometric evaluation was only conducted by one of the authors of this study, to avoid possible biases in checking the measures. In the evaluation of the nutritional status of the children and their parents, the weight was obtained with a portable, digital and electronic scale with 150 kg capacity and 50g division. The height was verified with 2m-extension stadiometer divided into centimeters and subdivided into millimeters. The techniques proposed by Jelliffe (9) were used in checking both measures.

For estimating the adiposity in the central region, the waist circumference of the children and that of their parents were evaluated, by checking with non-elastic measuring tape that was applied horizontally midway between the lowest rib mar-

gin and the iliac crest. The children's hip circumference was measured at the point yielding the maximum circumference over the buttock. The waist/hip relationship was obtained by division between the waist circumference and hip circumference values.

Both triceps and subscapular skinfold thicknesses were verified on the right side of the children's body by using the equipment Lange Skinfold Caliper. Each measurement was verified three non-consecutive times, and the results were calculated by the mean of those two closer values. The children's percentage body fat was estimated by equations derived from a multicomponent model proposed by Slaughter et al. (10). This equation was based on the values of the triceps and subscapular skinfold thicknesses adjusted to gender, maturation level, and ethnicity. Since all children were at age range from 6 to 8 years, the maturation level considered for classification of the percentage body fat was the pre-pubescent one. Concerning to ethnicity, the percentage body fat for those light-brunet and dark-brunet children was estimated by equations preconized for white and black races, respectively, being that predictive equations specifically for white and black people. When the body fat values were above 20% for boys and 25% for girls, the excessive adiposity was diagnosed (11). The subscapular / triceps skinfold relationship was obtained by division between the subscapular thickness skinfold and triceps thickness skinfold.

After fasting for 12 hours, the blood samples of the children were taken in only one laboratory pertaining to Viçosa county. Disposable materials were used to evaluate the concentration of both glucose and serum lipoproteins, such as total cholesterol, triglycerides, HDL-cholesterol (High Density Lipoproteins) and LDL-cholesterol (Low Density Lipoproteins). For hemoglobin analysis, the blood was collected by digital puncture, and dosage was performed by the colorimeter method through a portable hemoglobinometer. Those children showing a hemoglobin below 12 g/dL were considered as anemic ones (12). The reference values for the lipid and glucose profiles were based on recommendation of the American Academy of Pediatrics (13) and American Diabetes Association (14), respectively.

By BMI calculation, the parents' nutritional status was classified according to the WHO (15): low weight ($BMI < 18.5$), euthrophy ($18.5 \leq BMI < 25.0$), overweight ($25.0 \leq BMI < 30.0$) and obesity ($BMI \geq 30.0$). The waist circumference values obtained for parents were compared to the cut off points established by WHO (15) as risk of metabolic complications associated to obesity: women (≥ 80 cm) and men (≥ 94 cm).

When evaluating the parents' body composition, the bipedal electric bioimpedance was used to estimate the percentage total body fat, according to the classification proposed by Lohmann (16). Evaluation of the parents' body composition was performed from 6:30 to 8:00h in the morning, and those

parents were fasting. The non-ingestion of alcoholic beverages for at least 48 hours before testing was also requested (17).

Mothers or the child's responsible were interrogated about the presence of chronic-degenerative diseases in the child's close relatives [mother, father, grandmothers and grandfathers, uncles and aunts (both maternal and paternal)], such as obesity, dyslipidemia, diabetes, hypertension, cancer and cardiovascular diseases (18-20).

The database and statistical analyses were accomplished, by using the softwares Epi Info version 6.04 and Sigma-Stat. The Kolmogorov-Smirnov normality test was used to verify the normal distribution of the variables. The association of the variables with children's obesity was analyzed by the chi-square test among paired samples. In addition, odds ratio and confident interval of 95% were calculated for each factor presenting statistical differences. According to the distribution of the variables in the normal curve, the paired t-test and the Wilcoxon test were used to compare the averages or medians among the paired groups, respectively, as well as the Pearson and Spearman correlation tests. The probability below 5% was considered as statistical significance level.

This study was approved by the Ethics Committee of Federal University of Viçosa.

RESULTS

Table 1 shows the anthropometry and body composition in eutrophic and obese children. Superior values was observed for weight, height, BMI, waist and hip circumferences, triceps and subscapular skinfold thicknesses as well as the skinfold sum in the obese group ($p < 0.001$). Aiming at the evaluation of the body fat distribution, either the waist/hip relationship and the subscapular/triceps skinfold thicknesses (SS/TS) relationship were analyzed, where statistically significant differences were found for this last index, and the obese children's group showed the highest values ($p < 0.001$). When evaluating the body composition, it was verified that the obese children showed higher values for percentage body fat ($p < 0.001$). It is important to emphasize that 98% obese children showed a higher percentage for total body fat for age and sex, whereas the value was 2% in the eutrophic group.

Except for hemoglobin and HDL-cholesterol, all biochemical parameters showed a positive and statistically significant correlation with either the fat located at the central region and total body fat, that were represented by the values of the subscapular skinfold thickness, skinfold sum and percentage body fat. Only this last one showed no correlation with the LDL-cholesterol levels, in spite of the proximity to the statistical significance found ($p = 0.056$) (Table 2). It is important to emphasize that only glucose and triglyceride levels showed significant positive correlation with the waist circumference (Table 2).

TABLE 1
Anthropometry and body composition according children's nutritional state

Characteristics	n	Children				p
		Obese (n=50)		Control (n=50)		
		$\bar{X} \pm SD$	Me	$\bar{X} \pm SD$	Me	
Weight (kg)	100	40.6 + 6.2	39.6	25.7 + 3.7	25.6	< 0.001*
Height (cm)	100	132.0 + 7.3	31.9	127.4 + 6.0	127.5	< 0.001*
BMI (kg/m ²)	100	23.2 + 2.3	22.6	15.8 + 1.2	15.9	< 0.001 [‡]
Waist circumference (cm)	100	70.5 + 5.6	70.8	55.1 + 3.5	54.8	< 0.001*
Hip circumference (cm)	100	81.2 + 5.5	81.2	64.6 + 4.7	64.7	< 0.001*
Waist/hip relationship	100	0.87 + 0.05	0.9	0.85 + 0.05	0.8	0.104 [‡]
Triceps skinfold (mm)	100	20.1 + 3.2	20.0	9.7 + 2.8	9.2	< 0.001*
Subscapular skinfold (mm)	100	18.5 + 5.8	18.5	6.5 + 1.8	6.0	< 0.001*
Skinfold Sum	100	38.6 + 8.1	38.5	16.2 + 4.2	15.0	< 0.001*
TS/SS relationship	100	0.9 + 0.2	0.9	0.7 + 0.1	0.7	< 0.001 [‡]
Percentage body fat	100	31.5 + 5.0	31.0	15.4 + 3.8	14.6	< 0.001 [‡]

Average + Standard Deviation ($\bar{X} \pm SD$) Median (Me)

BMI = Body Mass Index; TS = Triceps Skinfold; SS = Subscapular Skinfold

The p values is taken from the corresponding paired t-test^{*} (variables with normal distribution) or Wilcoxon test[‡] (variables without normal distribution); and the significant p-values (p < 0.05) are given in bold type.

TABLE 2
Correlations between children's anthropometry and body composition with biochemical parameters

Variables	Biochemical parameters											
	Hemoglobin (n=100)		Glucose (n=100)		Triglyceride (n=100)		Cholesterol-total (n=100)		HDL-cholesterol (n=100)		LDL-cholesterol (n=100)	
	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p
WC	- 0.050	0.619*	0.315	0.001 [‡]	0.241	0.015 [‡]	0.122	0.227*	- 0.145	0.150 [‡]	0.116	0.250*
HC	- 0.028	0.782*	0.290	0.003 [‡]	0.189	0.059 [‡]	0.127	0.208*	- 0.128	0.205 [‡]	0.134	0.184*
WC/HC	- 0.059	0.557*	0.098	0.332 [‡]	0.195	0.051 [‡]	0.001	0.990*	- 0.085	0.397 [‡]	- 0.034	0.735*
TS	0.041	0.684*	0.246	0.013 [‡]	0.276	0.005 [‡]	0.185	0.065*	- 0.125	0.217 [‡]	0.179	0.075*
SS	- 0.047	0.639*	0.285	0.004 [‡]	0.282	0.004 [‡]	0.232	0.020*	- 0.101	0.316 [‡]	0.208	0.037*
Skinf Sum	- 0.007	0.944*	0.288	0.003 [‡]	0.297	0.002 [‡]	0.218	0.029*	- 0.116	0.252 [‡]	0.202	0.044*
SS/TS	- 0.113	0.264*	0.170	0.090 [‡]	0.192	0.055 [‡]	0.169	0.093*	- 0.043	0.671 [‡]	0.134	0.183*
%BF	0.017	0.863*	0.298	0.002 [‡]	0.281	0.004 [‡]	0.212	0.034*	- 0.095	0.343 [‡]	0.191	0.056*

WC (waist circumference), HC (hip circumference), WC/HC (waist circumference/ hip circumference index), TS (triceps skinfold), SS (subscapular skinfold), Skinf Sum (skinfold sum), SS/TS (subscapular skinfold / triceps skinfold index), %BF (body fat)

The p values is taken from the corresponding Pearson correlation* (at least one or two variables with normal distribution) or Spearman correlation[‡] (two variables without normal distribution); and the significant p-values (p < 0.05) are given in bold type.

TABLE 3
Children's biochemical profile according nutritional status

Characteristics	n	Children				p
		Obese (n=50)		Control (n=50)		
		$\bar{X} \pm SD$	Me	$\bar{X} \pm SD$	Me	
Hemoglobin (g/dL)	100	13.1 + 1.1	12.9	13.2 + 1.3	13.0	0.881*
Glucose (mg/dL)	100	83.4 + 7.8	81.4	79.8 + 8.3	78.4	0.019 [‡]
Total-cholesterol (mg/dL)	100	160.2 + 27.9	158.5	152.4 + 20.5	154.9	0.105*
HDL-cholesterol (mg/dL)	100	39.5 + 8.1	39.0	42.3 + 9.4	42.1	0.078*
LDL-cholesterol (mg/dL)	100	103.3 + 22.2	102.8	97.2 + 16.1	99.0	0.103*
Triglyceride (mg/dL)	100	86.8 + 43.7	77.5	63.7 + 23.7	60.0	0.004 [‡]

Average + Standard Deviation ($\bar{X} \pm SD$)

Median (Me)

The p values is taken from the corresponding paired t-test* (variables with normal distribution) or Wilcoxon test[‡] (variables without normal distribution); and the significant p-values (p < 0.05) are given in bold type.

Higher glucose and triglyceride levels were found in the obese group, and the difference was statistically significant (p = 0.019; p = 0.004; respectively) (Table 3). For other biochemical parameters such as hemoglobin, total-cholesterol, HDL and LDL, no statistically significant differences were found between those two groups (p = 0.88; p = 0.10; p = 0.07; p = 0.10, respectively) (Table 3).

Table 4 shows the significantly higher values for BMI, percentage body fat, and waist circumference in the obese children's mothers, with respect to those of the eutrophic ones (p = 0.006; p = 0.015; p = 0.017, respectively). Regarding the variables of the father, no statistically significant differences were found between both groups (p = 0.64; p = 0.52; p = 0.23, respectively).

Besides, a positive and statistically significant correlation was found between all anthropometric and body composition measures of the child, except for the waist/hip relationship, with those of their mothers', that is, the overweight mothers with excessive body fat and accumulation of body fat in the central region have children with these characteristics. Such a fact is confirmed by positive and significant correlations, as follows: between the BMI, waist and hip circumferences, triceps and subscapular skinfold thicknesses, sum and skinfold relationship, and percentage body fat of the children with the BMI, percentage body fat and waist circumference of their mothers. However, no correlation was found for fathers (Table 5).

TABLE 4
Average or median distribution of maternal and paternal BMI, percentage body fat and waist circumference according children's nutritional status

Characteristics	n	Children				p
		Obese (n=49)		Control (n=48)		
		$\bar{X} \pm SD$	Me	$\bar{X} \pm SD$	Me	
Mother						
BMI	97	28.8 + 5.8	28.0	25.7 + 4.8	24.7	0.006 [‡]
Percentage body fat	97	40.0 + 6.1	40.0	36.8 + 6.4	35.7	0.015 [‡]
Waist circumference	97	83.2 + 10.1	83.0	78.3 + 9.9	78.7	0.017* [‡]
Father						
		Obese (n= 40)		Control (n=44)		
		+ SD	Me	+ SD	Me	
BMI	84	26.8 + 4.9	26.1	26.1 + 3.9	25.7	0.641 [‡]
Percentage body fat	84	24.5 + 8.5	23.7	23.2 + 7.7	22.5	0.521 [‡]
Waist circumference	84	89.8 + 13.1	87.3	86.9 + 9.4	86.0	0.230* [‡]

Average + Standard Deviation ($\bar{X} \pm SD$)

Median (Me)

BMI = Body Mass Index

The p values is taken from the corresponding paired t-test* (variables with normal distribution) or Wilcoxon test[‡] (variables without normal distribution); and the significant p-values (p < 0.05) are given in bold type.

TABLE 5
Correlations between children's anthropometric measures and percentage body fat with those their parents

Children		Maternal variables (n=97)		Paternal variables (n=84)	
		r	p	r	p
Body mass index	BMI	0.386	< 0.001 [‡]	BMI	0.060 0.586 [‡]
	% BF	0.358	< 0.001 [‡]	% BF	0.060 0.581 [‡]
	WC	0.320	0.001 [‡]	WC	0.077 0.488*
Waist circumference	BMI	0.365	< 0.001 [‡]	BMI	0.036 0.738 [‡]
	% BF	0.356	< 0.001 [‡]	% BF	0.036 0.742 [‡]
	WC	0.325	0.001*	WC	0.079 0.478*
Hip circumference	BMI	0.327	0.001 [‡]	BMI	0.055 0.619 [‡]
	% BF	0.330	0.001 [‡]	% BF	0.048 0.663 [‡]
	WC	0.292	0.003*	WC	0.087 0.431*
Waist/hip relationship	BMI	0.171	0.093 [‡]	BMI	-0.084 0.446 [‡]
	% BF	0.172	0.091 [‡]	% BF	-0.067 0.539 [‡]
	WC	0.173	0.090*	WC	-0.007 0.948*
Triceps skinfold	BMI	0.367	< 0.001 [‡]	BMI	0.072 0.512 [‡]
	% BF	0.342	< 0.001 [‡]	% BF	0.076 0.486 [‡]
	WC	0.320	0.001*	WC	0.121 0.274*
Subscapular skinfold	BMI	0.370	< 0.001 [‡]	BMI	0.014 0.899 [‡]
	% BF	0.367	< 0.001 [‡]	% BF	0.022 0.840 [‡]
	WC	0.333	< 0.001*	WC	0.006 0.955*
Skinfold sum	BMI	0.378	< 0.001 [‡]	BMI	0.042 0.702 [‡]
	% BF	0.371	< 0.001 [‡]	% BF	0.043 0.693 [‡]
	WC	0.339	< 0.001*	WC	0.058 0.597*
SS/TS relationship	BMI	0.220	0.030 [‡]	BMI	0.042 0.702 [‡]
	% BF	0.250	0.013 [‡]	% BF	0.043 0.693 [‡]
	WC	0.228	0.020 [‡]	WC	0.058 0.597 [‡]
Percentage body fat	BMI	0.368	< 0.001 [‡]	BMI	0.040 0.717 [‡]
	% BF	0.361	< 0.001 [‡]	% BF	0.047 0.665 [‡]
	WC	0.326	0.001*	WC	0.079 0.475*

SS/TS = Subscapular Skinfold/Triceps Skinfold

BMI = Body Mass Index; %BF = Percentage Body Fat; WC = Waist Circumference

The p values is taken from the corresponding Pearson correlation* (at least one or two variables with normal distribution) or Spearman correlation[‡] (two variables without normal distribution); and the significant p-values (p < 0.05) are given in bold type.

According to the data obtained from this study, it is important to emphasize that the child's chance to present obesity was six times higher when the mother had a high percentage body fat, comparative to the eutrophic pairs whose mothers did not show high percentage body fat (OR = 6.0; IC = 1.27 – 38.68; p = 0.01) (data not shown in table).

This study investigated the presence of close relatives (grandfathers, grandmothers, mother, father, uncles and aunts) with positive obesity history, dyslipidemia, diabetes, hypertension, cardiovascular disease and cancer. For obesity, it was observed that 78 and 54% of the obese and eutrophic children respectively presented one or more close relatives with positive obesity history, and this difference was statistically significant (p = 0.01). The obesity presence in two or more close relatives of the obese and eutrophic children group were 44 and 14%, respectively, being the difference also statistically significant (p = 0.001) (data not shown in table).

Regarding to dyslipidemia, it was verified 82% of the obese children to present one or more close relatives with history for positive dyslipidemia, whereas a value of 62% was found for the eutrophic ones, being an statistically significant difference (p = 0.04). The same result was found for the dyslipidemia presence in two or more close relatives in both obese and eutrophic children's group (54% vs 28%, respectively; p = 0.02) (data not shown in table).

For the presence of diabetes, arterial hypertension, cardiovascular diseases and cancer in the close relatives, no significant differences between obese children and the eutrophic ones were found (data not shown in table).

A low positive correlation, but significant, was observed between the child's BMI and the number of close relatives with positive history for obesity (r = 0.278; p = 0.005). For other family chronic diseases, no correlation with the child's BMI were found for dyslipidemia (r = 0.18; p = 0.07), diabetes (r = 0.17; p = 0.08), hypertension (r = 0.13; p = 0.18), cardiovascular diseases (r = 0.04; p = 0.68) and cancer (r = 0.12; p = 0.20) – data not shown in table.

According to the data obtained from this study, a child's probability to present obesity was four times higher when there were one or more close relatives with obesity in relation to those eutrophic pairs who had no obese close relatives (OR = 4.00; IC = 1.25 – 14.10; p = 0.01), and this chance was increased for the presence of two or more close obese relatives (OR = 4.75; IC = 1.52 – 16.45; p = 0.001). The same result was found for the dyslipidemia. A child's probability to present obesity was three times higher when there were one or more close relatives with dyslipidemia, in relation to those eutrophic pairs who had no close relatives with this characteristic (OR = 3.0; IC = 1.02 – 9.41; p = 0.04), and this chance was also increased for the presence of two or more close relatives with dyslipidemia (OR = 2.85; IC = 1.14 – 7.41; p = 0.02) (data not shown in table).

DISCUSSION

The highest height values found in the obese children were also observed in other studies, such as that accomplished by Hui et al. (21), who found 6- and 7-years old obese children from Hong Kong to present significantly higher height than the eutrophic ones at the same age group. Gulliford et al. (22) also verified the obese children to be considerably taller than their non-obese pairs. According to Garn & Clark (23), the obese children tend to be taller, as presenting advanced bone age and precocious maturation than non-obese ones.

This study emphasizes the body differences between eutrophic and obese children, where the last ones presented higher values for all anthropometric and body composition parameters, therefore emphasizing the highest body size and higher fat percent, and it is important to emphasize the prevalence of body fat in this group's central region. In addition, obese children tend to present undesirable biochemical profiles just because the probably inadequate feeding habit and shortage of physical activities. So, the total body fat is increased besides being able to accumulate in the central region, as favoring the emergence of the dyslipidemia. This fact can be confirmed by the discoveries from this study, since all biochemical parameters under study, except hemoglobin and HDL-cholesterol, showed a positive and significant correlation with either fat located in the central region and the total body fat represented by the values of the subscapular thicknesses skinfold, cutaneous skinfold sums and percent body fat.

The relationship between the children's dyslipidemia and abdominal adiposity happens due to the abdominal fatty tissue presenting higher lipolytic rates in relation to other subcutaneous tissues (24). The lipolysis leads to the production of high rates of free fatty acids in the portal circulation and liver (25). The high exposure of the hepatic tissue to free fatty acids leads to the increase in the lipid hepatic synthesis, consequently to dyslipidemia (26). It is possible the fatty acids of the abdominal adipose tissue to be the strongest predictor of the children's serum lipid levels. The dyslipidemia together with abdominal adiposity is characterized by the plasmatic increase of triglycerides, LDL-cholesterol, VLDL-cholesterol, and Apo B, as well as reduction in HDL-cholesterol levels (24). Besides, the increased release of the fatty acids in the liver can increase the hepatic glyconeogenesis, so leading to the hyperinsulinemia and resistance to insulin (27).

Higher glucose and triglyceride levels were found in the obese group, and the difference was statistically significant. Spite of the differences found in glucose concentration between both groups, all blood values did not surpass those recommended by the American Diabetes Association (14). However, the difference found for triglyceride levels evidences a higher percentage of obese children with levels above that rec-

ommended by American Academy of Pediatrics (13) with respect to the eutrophic ones (34% vs. 10%, respectively). Similar results were found by Botton et al. (28) and Asato et al. (29), who studied the obese and eutrophic children and observed statistically significant difference between those two groups for triglyceride levels, which was higher in the obese ones.

It is worth to emphasize that although no statistical differences were found for the average values of hemoglobin, total-cholesterol, HDL and LDL between both groups, a higher percent of the obese children showed increased levels of the total cholesterol, LDL and reduced HDL in relation to the eutrophic ones, according to recommendation of the American Academy of Pediatrics (13). However a higher percent of the obese children showed increased levels of the total cholesterol (8% vs. 2%), LDL (14% vs. 2%) and reduced HDL (54% vs. 46%) in relation to the eutrophic ones, according to recommendation of the American Academy of Pediatrics (13). This fact might be presenting the possible initial inadequacy of the lipid profile in childhood, mainly in obese children. Concerning to hemoglobin, was verified that 14% eutrophic and 12.2% obese children were anemic. Almost all anemic children were from public schools (91.7%). It is important to emphasize the possible influence of the socioeconomic level in the prevalence of anemia, since low purchasing power families might have not enough financial condition to acquire heme-iron-source foods, such as meat.

It is known that parents' obesity is a strong predictor for obesity in the children, as a function of both genetic and environmental influence, as inadequate feeding habits and lifestyles developed within family. Such an influence can be still higher between mother and son, because most of the time she is more responsible for the direct child care, so she can interfere into feeding and lifestyle of her children. This close relationship between the mother's nutritional state and the child's was confirmed by the results from this study, because besides the highest values for BMI, body fat percentage, and waist circumference in the obese children's mother group in relation to the eutrophic ones, there were found correlation among all anthropometrical and body composition measures of the mothers with their children, except for the waist/hip relationship of the last ones. This discovery reinforces the idea that the maternal influence on their children's nutritional state tends to be superior to the paternal's, just because the mother's proximity with the child's education, as she can interfere into decision about what the child can eat during leisure moments, which tend to be similar to the maternal lifestyle.

It is not pertinent to disregard the maternal genetic influence, possibly existing between the maternal obesity and children's obesity. According to Maffei (4), the stronger risk factor for childhood obesity is still the parents' obesity, by

occurring as a result from either the genetic map and environmental influences, as well as the same family environment between them. However, the influence of the parents' nutritional state on their children's obesity, that is partly due to genetic components, it is also strongly determined by the family's food intake. It is important to emphasize that the mother's feeding habit tends to be adopted by the child, because the mothers are usually more involved into preparation and choice of the foods (30). Similar results were observed by Nguyen et al. (18) who verified the children's feeding to be more similar to the mother than to father. Studies had observed that maternal overweight (BMI > 25 kg/m²) and obesity (BMI > 30 kg/m²) was a risk factor for obesity in children, whereas paternal BMI showed no association (30-32). Authors had verified that both parents' overweight (BMI > 25 kg/m²) and obesity (BMI > 30 kg/m²) were significantly associated to the obesity in 6 and 7-years old children, and it should be emphasized that the strength of association between maternal obesity and the child's overweight was almost double the paternal obesity (21,33).

The success of the obesity treatment in childhood includes self-monitoring, change in feeding behavior and mainly the parents' decreased overweight, what will probably contribute to the positive modification in the child's feeding and lifestyle (34). According to Mossberg (35), the possibility an obese child to continue presenting obesity will intensively depend on the obesity level in the family members, especially the mother. Kain et al. (36), analyzed the combined influence of the anthropometric and socioeconomic variables upon childhood obesity, and observed the maternal obesity to be the factor showing higher correlation with this nutritional disturbance, a fact implicating that the actions to preventing the childhood obesity must involve the mother in the sense she adopts healthy life habits, therefore being able to transmit them to their children.

Concerning to the presence of chronic-degenerative diseases in close relatives, the results emphasize the influence of the close relatives who are obese and present dyslipidemia on the children's obesity, which occurs exactly because these children pertain to families with probably inadequate lifestyles, such as undesirable feeding habits and sedentariness, besides genetic influence. The modification of the parents' lifestyle is important for the treatment of the childhood obesity, mainly when the child presents genetic tendency. In addition, it is worth to emphasize that the parents' example can extend to other members of the family, therefore favoring the positive modification of the child's lifestyle and its permanence throughout the life, since many children have a tendency to accompany their parents, who they usually see as model.

The family lifestyle, also including the feeding habits, influences the development of the children's feeding preferences, so affecting their body weight. The feeding patterns of those

individuals with excessive adiposity may be explained, at least partly, by the family's similar preferences for some foods. The parent's lipid intake and body fat are usually associated to their children's fat intake and adiposity (18). Shamir et al. (19) verified those children from which the relatives presented dyslipidemia showed significantly higher values for total-cholesterol, LDL, apo-B and triglycerides, compared with the control group.

The family obesity history is an independent risk factor for the increased weight in children (37). Youssef et al. (20), followed-up either the children whose relatives' history were positive for cardiovascular diseases until their adult phase and children without family history. Those authors observed that the first children presented higher values for BMI, subscapular and triceps cutaneous skinfolds since the childhood to adult phase, and manifested hyperinsulinemia when reached the adult phase. These observations evidence the important implication for working the healthiest lifestyle with the family.

Davison & Birch (38) emphasized the family centralization in the etiology of the infantile excessive weight, as well as the need for the parents' support during the treatment of obesity in childhood. According to those authors, the risk factors tend to occur within the family, since parents with excessive weight tend to practice low physical activities and to consume higher percent of the total energy value under fat form. The same may happen in relation to the habits of the family members presenting chronic-degenerative diseases. It is worth to emphasize that the children's lifestyle can be affected by their close relatives living together in the same environment.

A limitation of our study is that adiposity was assessed with anthropometric measurements, which are less accurate than those of dual-energy X-ray absorptiometry (DXA). However, waist circumference is considered as an appropriate marker of abdominal obesity in children (39) and the equations based on skinfold thickness as a good indicator of overall adiposity (10). Furthermore, it is possible that the reduction of the sample size of fathers has limited the statistical significance among the variables. An advantage of this study was the whole anthropometric evaluation was only conducted by one of the authors of this study, to avoid possible biases in checking the measures.

This study allows to conclude that there are body differences between the eutrophic and obese children, as evidencing a higher percent fat in the obese children, which predominates in their central region, besides presenting higher serum values for triglycerides. It is important to emphasize the relationship between the excessive body fat and its central distribution with the increased lipid profile. Besides, mother's obesity is a factor associated to childhood obesity because the obese mothers with high percent body fat and its accumulation in the central region present children aged 6 to 8 years with these characteristics. Though, no differences and/or cor-

relation were found for the fathers' parameters. The influence from the obese and dislipidemic close relatives upon children's obesity is important to be considered.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank to Improvement Coordination of Graduate-Level Staff (CAPES) by the scholarship, to Research Supporting Foundation of Minas Gerais State (FAPEMIG) by financing the project, to the Health and Nutrition Department of Federal University of Viçosa by the support, to the children and their parents by their participation in this study.

REFERENCES

- Steinberger J, Daniels SR. Obesity, insulin resistance, diabetes, and cardiovascular risk in children. An American Heart Association Scientific Statement from the atherosclerosis, hypertension, and obesity in the young Committee (Council on cardiovascular disease in the young) and the diabetes Committee (Council on nutrition, physical activity, and metabolism). *Circulation* 2003; 107: 1448-53.
- Freedman DS, Dietz WH, Srinivasan SR, Berenson GS. The relation of overweight to cardiovascular risk factors among children and adolescents: the Bogalusa Heart Study. *Pediatrics* 1999; 103: 1175-82.
- Gower BA. Syndrome X in children: influence of ethnicity and visceral fat. *Am. J Hum Biol* 1999; 11: 249-57.
- Maffeis C. Childhood obesity: the genetic-environmental interface. *Baillière's Clinical Endocrinology and Metabolism* 1999; 13: 31-46.
- Scaglioni S, Agostoni C, De Notaris R, Radaelli G, Radice N, Valenti M et al. Early macronutrient intake and overweight at five years of age. *Int J Obes* 2000; 24: 777-81.
- Reis EC, Kip KE, Marroquin OC, Kiesau M, Hipps L, Peters RE, Reis SE. Screening children to identify families at increased risk for cardiovascular disease. *Pediatrics* 2006; 118:e1789-e1797.
- Center for Disease Control and Prevention / National Center for Health Statistic. 2000 CDC Growth Charts for the United States: Methods and Development. *Vital and Health Stat* 2000; 11 (246).
- Must A, Dallal GE, Dietz WH. Reference data for obesity: 85th and 95th percentiles of body mass index (wt/ht²) and triceps skinfold thickness. *Am J Clin Nutr* 1991; 53: 839-46.
- Jelliffe DB. Evaluación del estado de nutrición de la comunidad. Organización Mundial de Salud, Ginebra, 1968. (OMS - Série de monografías-53).
- Slaughter MH, Lohman TG, Boileau RA, Horswill CA, Stillman RJ, Van Loan MD et al. Skinfold equations for estimation of body fatness in children and youth. *Hum Biol* 1988; 60: 709-23.
- Lohman TG. Measuring body fat using skinfolds. Champaign, IL: Human Kinetics, 1987.
- World Health Organization. Iron deficiency anaemia. Assessment, prevention and control. A guide for programme managers. Geneva: WHO, 2001.
- American Academy of Pediatrics. National cholesterol education program: report of the expert panel on blood cholesterol levels in children and adolescents. *Pediatrics* 1992; 89: S495-S584.
- American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2004; 27 (Suppl.): S5-S10.
- World Health Organization. Obesity – Preventing and managing the global epidemic. Geneva, WHO, 1998 (Report of a WHO Consultation on Obesity).
- Lohman TG. Advances in body composition assessment. Current issues in exercise science series. Monograph n° 3. Champaign, IL: Human Kinetics, 1992.
- Heyward VH, Stolarczyk LM. Avaliação da composição corporal aplicada. São Paulo: MANOLE; 2000. 243p.
- Nguyen VT, Larson DE, Johnson RK, Goran MI. Fat intake and adiposity in children of lean and obese parents. *Am J Clin Nutr* 1996; 63: 507-13.
- Shamir R, Tershakovec AM, Gallagher PR, Liacouras CA, Hayman LL, Cortner JA. The influence of age and relative weight on the presentation of familial combined hyperlipidemia in childhood. *Atherosclerosis* 1996; 121: 85-91.
- Youssef AA, Valdez R, Elkasabany A, Srinivasan SR, Berenson GS. Time-course of adiposity and fasting insulin from childhood to young adulthood in offspring of parents with coronary artery disease: The Bogalusa Heart Study. *Ann Epidemiol* 2002; 12: 553-9.
- Hui LL, Nelson EAS, Yu LM, Li AM, Fok TF. Risk factors for childhood overweight in 6- to 7-y-old Hong Kong children. *Int J Obes* 2003; 27: 1411-8.
- Gulliford MC, Mahabir D, Rocke B, Chinn S, Rona R. Overweight, obesity and skinfold thicknesses of children of African or Indian descent in Trinidad and Tobago. *Int J Epidemiol* 2001; 30: 989-98.
- Garn SM, Clark DC. Nutrition, growth, development, and maturation: findings from the ten-state nutrition survey of 1968-1970. *Pediatrics* 1975; 56: 306-19.
- Mamalakis G, Kafatos A, Manios Y, Kalogeropoulos N, Andrikopoulos N. Adipose fat quality vs. quantity: relationships with children's serum lipid levels. *Prev Med* 2001; 33: 525-35.
- Arner P. Differences in lipolysis between human subcutaneous and omental adipose tissues. *Ann Med* 1995; 27: 435-8.
- Bjorntorp P. Abdominal fat distribution and the metabolic syndrome. *J Cardiovasc Pharmacol* 1992; 20 (Suppl 8): S26-S28.
- Sheehan MT, Jensen MD. Metabolic complications of obesity. *Med Clin North Am* 2000; 84: 363-85.
- Botton J, Heude B, Kettaneh A, Borys J-M, Lommez A, Bresson J-L, Ducimetiere P, Charles M-A, the FLVS Study Group. Cardiovascular risk factor levels and their relationships with overweight and fat distribution in children: The Fleurbaix Laventie Ville Santé II study. *Metabolism Clinical and Experimental* 2007;56:614-22.
- Asato Y, Katsuren K, Ohshiro T, Kikawa K, Shimabukuro T, Ohta T. Relationship between lipid abnormalities and insulin resistance in Japanese school children. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006;26:2781-6.

30. Marins VMR, Almeida RMVR, Pereira RA, Barros MBA. The relationship between parental nutritional status and overweight children/adolescents in Rio de Janeiro, Brazil. *Public Health* 2004; 118: 43-9.
31. Johannsen DL, Johannsen NM, Specker BL. Influence of parents' eating behaviors and child feeding practices in children's weight status. *Obesity* 2006;14(3):431-9.
32. Psarra G, Nassis GP, Sidossis LS. Short-term predictors of abdominal obesity in children. *Eur J Public Health* 2005;16(5):520-5.
33. Reilly JJ, Armstrong J, Dorosty AR, Emmett PM, Ness A, Rogers I, Steer C, Sherriff A, the Avon Longitudinal Study of Parents and Children Study Team. Early life factors for obesity in childhood: cohort study. *BMJ* 2005;330:1357-64.
34. Epstein LH, Mccurley J, Wing RR, Valoski A. Five-year follow-up of family-based behavioral treatments for childhood obesity. *J. Consult. Clin Psychol* 1990; 58: 661-4.
35. Mossberg H-O. 40-year follow-up of overweight children. *Lancet* 1989; 26: 491-3.
36. Kain J, Albala C, García F, Andrade M. Obesidad en el preescolar: evolución antropométrica y determinantes socioeconómicos. *Rev Med Chil* 1998; 126: 271-8.
37. Klesges RC, Klesges LM, Eck LH, Shelton ML. A longitudinal analysis of accelerated weight gain in preschool children. *Pediatrics* 1995; 95: 126-30.
38. Davison KK, Birch LL. Child and parent characteristics as predictors of change in girls' body mass index. *Int J Obes* 2001; 25: 1834-42.
39. McCarthy HD, Jarrett KV, Crawley HF. The development of waist circumference percentiles in British children aged 5.0-16.9 y. *Eur J Clin Nutr* 2001; 55:902-7.

Recibido: 23-04-2007

Aceptado: 25-07-2007

Estudio comparativo entre dos fuentes alimentarias aportadoras de ácidos grasos poliinsaturados n-3 y su efecto sobre el timo y el perfil lipídico de ratas

Inés Fernandez, Anabel N. Pallaro y Nora H. Slobodianik

Laboratorio de Nutrición Experimental. Cátedra de Nutrición. Facultad de Farmacia y Bioquímica.
Universidad de Buenos Aires. Argentina

RESUMEN. En este trabajo se estudia el efecto que diferentes dietas de recuperación enriquecidas en ácidos grasos poliinsaturados n-3 (AGPI n-3) producen sobre el timo y el perfil lipídico sérico. Ratas Wistar con desnutrición proteica severa al destete (grupo D) fueron divididas en tres grupos que recibieron durante 10 días dieta a base de caseína al 20% suplementada con EPA+DHA (grupo Cas), dieta al 20% de proteína preparada usando una leche en polvo parcialmente descremada enriquecida en ácidos linoleico y linolénico (grupo L) y dieta a base de caseína al 20% (grupo control C). Cas y L aportan cada una 24 mg/día de AGPI n-3 siendo la relación n-6/n-3 de 8.1/1 y 7.6/1, respectivamente. Se extrajo y pesó el timo, determinándose el recuento de timocitos; se extrajo sangre midiéndose en suero: colesterol, triglicéridos, HDL y LDL-colesterol y los ácidos: mirístico, palmítico, esteárico, oleico, linoleico, linolénico, araquidónico, EPA y DHA. La información se analizó aplicando test de Anova. El recuento de timocitos de Cas (44.48 ± 8.20) y L (56.45 ± 14.72) fue superior ($p < 0.01$) al de los grupos D (1.80 ± 0.70) y C (23.70 ± 4.04). L presentó concentraciones séricas de colesterol, HDL y LDL-colesterol menores ($p < 0.01$) y triglicéridos mayores ($p < 0.05$) que Cas, siendo EPA ($p < 0.05$) y DHA ($p < 0.01$) superiores en Cas. A igual aporte de AGPI n-3, ambas dietas lograron revertir la atrofia tímica presentando un efecto hipolipemiante diferente condicionado a las fuentes de AGPI n-3 utilizadas.

Palabras clave: AGPI n-3, timo, recuperación nutricional, perfil lipídico, EPA, DHA, ácido linolénico.

SUMMARY. Comparative study between two different sources of n-3 polyunsaturated fatty acids and its effect on thymus and lipid profile in rats. In the present paper we analyzed the effect caused by different recovery diets enriched with n-3 polyunsaturated fatty acids (PUFA n-3) on thymus and serum lipid pattern. Severe depleted weanling Wistar rats (D) were divided in three groups that received during 10 days a 20% casein diet supplemented with EPA+DHA (group Cas), a 20% protein milk diet prepared using a commercial reduced-fat product enriched with linolenic and linoleic acids (group L) and a 20% casein diet as control group C. Cas and L gave each other 24 mg/day of PUFA n-3 being the ratio n-6/n-3 8.1/1 and 7.6/1, respectively. Thymus was removed and weighted and cell number were determined; blood was recollected and Total cholesterol, triacylglycerol, HDL and LDL-cholesterol fractions and myristic, palmitic, stearic, oleic, linoleic, linolenic, araquidonic, EPA and DHA fatty acid concentrations were measured in serum. Statistical analysis was performed using Anova test. Cell number were higher ($p < 0.01$) in Cas (44.48 ± 8.20) and in L (56.45 ± 14.72) when compared to group D (1.80 ± 0.70) and group C (23.70 ± 4.04). L presented lower values of cholesterol, HDL and LDL-cholesterol ($p < 0.01$) and higher values of triacylglycerol ($p < 0.05$) when compared to Cas, being EPA ($p < 0.05$) and DHA ($p < 0.01$) higher in Cas. Being PUFA n-3 contribution the same in Cas and L, both diets were able to reverse the thymic atrophy presenting a different lipopemic behavior due to the different sources of PUFA n-3 used in the diets.

Key words: PUFA n-3, thymus, nutritional recovery, lipid profile, EPA, DHA, linoleic acid.

INTRODUCCION

La malnutrición proteica severa al destete interfiere con el adecuado desarrollo y funcionamiento de las células del sistema inmune, aumentando el riesgo y la severidad de las infecciones (1-3). Así, el tejido linfoide y en especial el timo, es uno de los órganos más comprometidos experimentando cambios en su tamaño y peso y alteraciones en su diferenciación córticomédular.

Este órgano es considerado como un verdadero barómetro de la malnutrición comprobándose que la atrofia que experimenta en el humano, es similar a la observada en modelos murinos. De esta manera, la utilización del modelo experimental en rata, nos permitirá posteriormente extrapolar la información obtenida al hombre (3).

Trabajos previos en ratas en período de crecimiento activo, alimentadas desde el destete con dietas carentes de proteínas mostraron un frenado en la proliferación, retraso importante en la maduración y alteración en la diferenciación celular del timo, evaluado a partir de una disminución en el recuento celular y en el número absoluto de células CD5+, marcador

* Estudio financiado por la Universidad de Buenos Aires (B-060 y B-120).

de la población celular T total. Se ha demostrado que la administración oral de una dieta de recuperación al 20% de caseína durante 10 días suplementada con 24 mg/día de ácidos eicosapentaenoico (EPA) y docosahexaenoico (DHA) logró revertir dicho efecto, hecho no observado al administrarse solamente la dieta de recuperación con caseína al 20% (4-8).

En la dieta humana, el ácido graso saturado más característico es el palmítico, seguido por el ácido esteárico y el ácido mirístico. En dietas mixtas, el ácido mirístico y el ácido palmítico representan juntos el 50-60% de todos los ácidos grasos saturados consumidos y son considerados además responsables del aumento en los niveles séricos del colesterol total y de la fracción LDL-colesterol, incrementando el riesgo coronario, a diferencia de los ácidos grasos poliinsaturados (9,10).

Algunos estudios han demostrado que la capacidad que el ácido esteárico posee para elevar las concentraciones séricas de colesterol total y la fracción LDL-colesterol, es mucho menor a la que presentan los ácidos mirístico y palmítico, pero más cercana a la del ácido oleico, componente habitual de la dieta del mediterráneo. Por otra parte, el ácido oleico es responsable de elevar los niveles de HDL-colesterol en una forma comparable a las grasas insaturadas pero no así al ácido esteárico (9,10).

Los ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-3 (AGPI n-3) son conocidos por su capacidad de prevenir la enfermedad coronaria a través de diferentes acciones: son antiarrítmicos, poseen propiedades antiinflamatorias, inhiben la síntesis de citocinas y mitógenos, son antitrombóticos, tienen propiedades hipolipemiantes e inhiben la aterosclerosis (11,12).

Los aceites de pescado, ricos en AGPI n-3, reducen la absorción de colesterol tanto en humanos como en monos y disminuye la concentración de colesterol y triglicéridos (TG) a través de la inhibición de la síntesis de TG y VLDL en el hígado (11). Estos hallazgos podrían ser explicados por diferentes mecanismos: a) una reducción en la disponibilidad de ácidos grasos libres lo cual contribuye a una menor síntesis de TG; b) un incremento en la oxidación de los ácidos grasos a través de los peroxisomas; c) una inhibición de la enzima diacilglicerol-aciltransferasa (13-22).

Otros reportes sugieren que bajos niveles séricos de VLDL son el resultado del incremento en el aclaramiento (clearance) de esta lipoproteína, debido a la elevada actividad de la enzima lipoprotein lipasa, sin embargo, algunas publicaciones remarcan que esta enzima no se encontraría afectada en los humanos como consecuencia del consumo de aceite de pescado (22).

El efecto de los aceites de pescado sobre el metabolismo de la LDL-colesterol y HDL-colesterol es controversial. Algunos autores afirman que los niveles de LDL-colesterol se incrementan en respuesta a la disminución que las concentraciones de VLDL y TG experimentan ante la ingesta de pescado. Sin embargo, otros han reportado que la síntesis

de LDL-colesterol y sus niveles plasmáticos se reducen después de la administración de altas concentraciones de EPA y DHA (11,19,23).

El efecto sobre el metabolismo de la HDL-colesterol depende de la enzima llamada proteína transportadora de colesterol esterificado (CEPT), encargada de transferir ésteres de colesterol desde la HDL-colesterol a la VLDL y LDL-colesterol. Muchos reportes describen un comportamiento favorable de los AGPI n-3 sobre la HDL-colesterol. Sin embargo, otros trabajos afirman que ingestas elevadas de pescado o su aceite pueden disminuir las concentraciones de HDL-colesterol (20,22). Podemos concluir que las diferencias observadas dependerán de la cantidad de aceite de pescado administrada como suplemento, de la duración del período de administración así como de la fuente de ácidos grasos utilizada (24,25).

Actualmente, muchos trabajos sugieren que la dieta más adecuada para reducir el riesgo de enfermedad cardiovascular debería ser aquella con bajos niveles de ácidos grasos saturados y altas concentraciones de EPA y DHA provenientes del pescado o de sus aceites (10,11,26,27).

La existencia en el mercado de una leche comercial en polvo parcialmente descremada y modificada en el perfil de sus ácidos grasos poliinsaturados por el agregado de aceite de maíz y canola, como fuente de ácido linoleico y linoléico, motivó la realización del siguiente estudio destinado a evaluar: a) la posibilidad de que una dieta preparada a partir de esta leche comercial con estas características logre la recuperación nutricional a nivel del timo b) comparar el efecto final que ambas dietas (caseína al 20% suplementada con 24 mg/día de EPA + DHA y la leche comercial enriquecida en ácidos linoleico y linoléico) provocan sobre el perfil lipídico y de ácidos grasos séricos (7,8,28).

MATERIALES Y METODOS

Animales

Ratas Wistar, (6-8 por grupo), provenientes del Bioterio de la Cátedra de Nutrición de la Facultad de Farmacia y Bioquímica (Universidad de Buenos Aires), se destetaron a los 21-23 días de edad (35-45 gramos).

Las ratas fueron alimentadas desde el nacimiento con dieta libre de proteína hasta la pérdida del 25% del peso corporal inicial (aproximadamente 10 días), provocando así un cuadro de malnutrición proteica severo (grupo D). Seguidamente, los animales fueron divididos en tres grupos que recibieron durante 10 días dieta de caseína al 20% suplementada con EPA + DHA (grupo Cas), dieta al 20% de proteína preparada a partir de una leche comercial en polvo parcialmente descremada y modificada en el patrón de ácidos grasos (grupo L) y dieta a base de caseína al 20% (grupo control C).

Los animales fueron alojados en jaulas individuales en forma

vertical para independizar el consumo de alimento de la influencia de la temperatura a las diferentes alturas de las jaulas. Durante el experimento los animales fueron expuestos a un ciclo de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad (7.00 AM – 7.00 PM), la temperatura de la habitación fue de $21 \pm 1^\circ\text{C}$ y la humedad relativa registrada fue de aproximadamente 65-70%.

El protocolo de trabajo fue aprobado por la Universidad de Buenos Aires (B060-B120) y todos los procedimientos siguen las normas internacionales y de la Cátedra de Nutrición para el cuidado y uso de animales de laboratorio.

Dietas experimentales

a) Preparación y composición

La composición de cada una de las dietas experimentales se presenta en la Tabla 1 expresando las cantidades en gramos por kilo de dieta.

La dieta libre de proteínas (D) que recibieron los animales al destete y que fue utilizada para provocar el cuadro de malnutrición proteica severo, es completa en todos los nutrientes con excepción de la proteína la cual fue reemplazada por dextrina (Tabla 1).

TABLA 1
Composición de las dietas experimentales

Componentes	D (g / kg)	Cas (g / kg)	L (g / kg)	C (g / kg)
Proteína	—	238.4 ¹	655.7 ²	238.4 ¹
Lípidos	70.0 ³	70.0 ³	94.5 ²	70.0 ³
Vitaminas totales ⁴	10.0	10.0	10.0	10.0
Minerales ⁴	35.0	35.0	35.0	35.0
Cloruro de Colina ⁵	7.1	7.1	7.1	7.1
Dextrina	877.9	639.5	292.2	639.5
Energía metabolizable (kcal/kg)	4141.6	3988.0	3996.2	3988.0
Concentración Proteica (g/kg)	—	200.0	200.0	200.0
Acidos grasos poliinsaturados n-3		24 mg/día ⁶	24 mg/día ⁷	—
Relación n-6 / n-3		8.1/1	7.6/1	>>>10/1

¹ Caseinato de calcio.

² Aportado por la leche en polvo.

³ Aceite de Maíz (Molinos Río de La Plata, Buenos Aires, Argentina).

⁴ Recomendaciones AIN 93 para vitaminas y minerales para ratas en crecimiento.

⁵ 7.1 mililitros de cloruro de colina aportan 1.5 gramos de colina.

⁶ Aportados por el Regulip® como EPA + DHA.

⁷ Aportados por la leche en polvo como ácido linoléico.

mg (miligramos), g (gramos), kg (kilogramos), Kcal (kilocalorías).

La dieta experimental que recibió el grupo Cas se preparó a base de caseína al 20 % suplementada con 24 mg/día de EPA + DHA (Tabla 1). La fuente de ácidos grasos utilizada como suplemento, es un producto de origen comercial REGULIP® (Laboratorios Raffo). Este se presenta en cápsulas

de 1 gramo de concentrado de salmón marino, con no menos de un 30% de AGPI n-3 (según rótulo comercial EPA=17% y DHA =13%) (Tabla 2).

TABLA 2
Composición en ácidos grasos del aceite de salmón expresado como porcentaje de ácidos grasos totales¹

Acidos grasos	Regulip® %
Mirístico	7.46
Palmítico	16.25
Estearico	4.10
Oléico	13.05
Linoleico	1.67
Linolénico	0.69
Araquidónico	1.15
Eicosapentaenoico	17.14
Docosahexaenoico	12.21

¹ Determinado por cromatografía gaseosa (Laboratorio Proanálisis).

La cantidad de aceite incorporada en este trabajo por día por animal, se basó en experiencias previas realizadas en ratas adultas (29). Esa cantidad, 100 µl de aceite de salmón, fue dispensada con pipeta automática y corresponde en promedio a 77.8 mg de aceite que equivale a 24 mg de EPA + DHA. La incorporación del suplemento a la dieta, se realizó en el momento de ofertar el recipiente de comida al animal, para evitar el posible deterioro del aceite.

La dieta experimental que recibió el grupo L se preparó al 20% de proteína utilizando como fuente la leche comercial en polvo parcialmente descremada y modificada en el patrón de ácidos grasos. Esta leche utiliza aceite de maíz y de canola como fuentes de ácido linoleico y linolénico y contiene un 14.4% de materia grasa distribuida de la siguiente manera: 4.6% ácidos grasos saturados, 3.7 % de ácidos grasos poliinsaturados (n-6 = 3.25% y n-3 = 0.43%), correspondiendo el resto a ácidos grasos monoinsaturados. En consecuencia, la dieta así preparada presentó un aporte de AGPI n-3 similar de 24 mg/día, siendo la relación n-6/n-3 de 7.6/1 mientras que la dieta Cas posee un valor comparable de 8.1/1.

Como la fuente láctea aporta una cantidad de grasa y proteína según rótulo comercial de 14.4 y 30.5 gramos cada 100 g de leche en polvo, respectivamente, al preparar la dieta al 20% de proteína, la concentración final de grasa en la misma fue de 9.45 gramos de lípidos cada 100 gramos de dieta.

La dieta experimental que recibió el grupo control C se preparó al 20% de proteína utilizando como fuente caseína.

Las dietas experimentales fueron isocalóricas y completas en todos los nutrientes indispensables de acuerdo a las recomendaciones del American Institute of Nutrition de 1993

(AIN93) (30). El diseño de las dietas experimentales y el tiempo de administración de las mismas, fue fijado en base a experiencias previas, es por ello que en lugar de utilizar aceite de soja se utilizó aceite de maíz como fuente de lípidos para diseñar las dietas de los grupos D, Cas y C (5,31). Recordemos que tal como se mencionó previamente, en la dieta del grupo L la fuente de lípidos es aportada directamente por la leche en polvo.

b) Formas de alimentación

El agua y las dietas fueron administradas “ad libitum”, forma de alimentación utilizada comúnmente en Nutrición Experimental; se ofrece a los animales una cantidad de dieta superior a la que pueden consumir y se determina la ingesta voluntaria después de un lapso determinado, por pesada remanente.

En todos los lotes experimentales, se determinó periódicamente el consumo de dieta y a partir de ese dato se calculó la ingesta de proteínas, energía y lípidos diarias, expresándose los resultados en función de la masa metabólicamente activa: mg de proteína/peso^{0.75}/día y Kcal/Peso^{0.75}/día, respectivamente. Para el cálculo de Peso se utilizó el promedio entre el peso al inicio (Po) y al final del período experimental (Pf) $\{ \text{Peso}^{0.75} = [(\text{Po} + \text{Pf}) / 2]^{0.75} \}$.

Análisis bioquímicos

Al finalizar el período experimental y luego de ayuno pertinente los animales fueron pesados y sacrificados utilizando cámara de dióxido de carbono. Se procedió entonces a la extracción del timo y a la recolección de sangre por punción venosa para la obtención de suero.

a) Determinaciones en timo

Los timos extraídos fueron pesados y procesados individualmente para la realización del recuento de timocitos. Para ello fueron colocados en una solución constituida por medio de cultivo RPMI 1640 (Sigma) y suero bovino fetal al 10%. Se prepararon suspensiones celulares monodispersas, trabajándose siempre a 4°C. El recuento celular se realizó utilizando la cámara de Neubauer, verificándose la viabilidad celular con una solución salina de azul trypan al 0.05%. Los resultados se expresaron en células $\times 10^{-7}$ / peso total del timo en miligramos (5).

b) Determinaciones en suero

i) Perfil de lípidos séricos: Las concentraciones de colesterol total (CT), triglicéridos (TG) y HDL-colesterol se midieron por métodos enzimáticos usando Reactivos Wiener

(Enzymatic Cholestat AA, Color Triacylglycerols GPO/PAP AA and Monofase Cholesterol HDL AA) en un equipo automatizado Alcyon / ISE Fase 0, de acuerdo a las instrucciones del fabricante. La fracción de LDL-colesterol se determinó utilizando la ecuación de Friedewald (32):

$$\text{LDL-colesterol} = \text{colesterol total} - (\text{triglicéridos}/5 + \text{HDL colesterol})$$

Los resultados se expresaron en mmol/L.

ii) Perfil de Ácidos Grasos: la fracción lipídica se extrajo en hexano y se trató con una mezcla metanol:sulfúrico para obtener los metil-ésteres de los ácidos grasos. Los extractos obtenidos se inyectaron en la columna cromatográfica y los ácidos grasos se identificaron de acuerdo a sus tiempos de retención (mirístico=5.30, palmítico=7.48, esteárico=10.99, oleico=11.55, linoleico=12.78, linolénico=14.78, araquidónico=18.78, EPA=19.79, DHA=23.98). El equipo utilizado fue un cromatógrafo gaseosos (Modelo 3398A GC; Hewlett Packard Co). Los resultados obtenidos fueron expresados en porcentajes de ácidos grasos totales, tomándose como límite de cuantificación un valor de 0.1% (33,34).

Análisis estadístico de los resultados

El análisis de la información se realizó utilizando el programa estadístico Instat aplicando: análisis de varianza (Anova) seguido por el “test” de las múltiples comparaciones de Student-Newman-Keuls. (35,36).

RESULTADOS

Ingesta de alimentos

Cabe destacar que los animales no rechazaron ninguna de las dietas experimentales, siendo el consumo diario de las mismas estadísticamente similar. Igual comportamiento se observó al analizar el consumo de proteína y energía en sus dos formas de expresión. Cas y L presentan un consumo de lípidos estadísticamente superior a C cuando los resultados se expresan en función de masa metabólicamente activa, sin que se modifique el consumo total de energía por día (Tabla 3).

Peso corporal, peso del timo y recuento celular

En la Tabla 4 se presentan los datos correspondientes a peso corporal, peso del timo y número total de timocitos de los lotes experimentales.

El peso corporal en gramos y el peso del timo, expresado en miligramos o en función de masa metabólicamente activa de los grupos Cas, L y C fueron mayores que los del grupo D, no siendo estadísticamente diferentes entre si. Sin embargo, no alcanzaron los valores correspondientes a un grupo bien nutrido de igual edad alimentado con pellet, citados en trabajos previos (Peso corporal en gramos = 119.40 ± 13.44 , Peso del timo en miligramos = 336.69 ± 67.31) (8).

El número total de timocitos de los grupos Cas, L y C fue significativamente mayor que el correspondiente al grupo D. Los valores obtenidos para los grupos Cas y L fueron mayores que los determinados en el grupo C y diferentes entre si (Tabla 4).

TABLA 3
Consumo de dieta, proteína, energía y lípidos de los grupos experimentales *

Lote	Consumo		Proteína		Energía		Lípidos	
	g/día		g/día	mg/P ^{0.75} /día	kcal/día	kcal/P ^{0.75} /día	kcal/día	kcal/P ^{0.75} /día
Cas	7.67	1.46	1.53 ± 0.29	75.94 ± 10.33	30.93 ± 5.94	1.61 ± 0.17	5.53 ± 0.92 ^a	0.30 ± 0.03 ^b
L	7.80 ± 0.49		1.56 ± 0.10	73.36 ± 5.34	31.22 ± 1.94	1.47 ± 0.11	6.64 ± 0.41	0.31 ± 0.02 ^b
C	8.69 ± 1.52		1.74 ± 0.30	79.32 ± 3.53	34.76 ± 6.06	1.53 ± 0.07	5.47 ± 0.95 ^a	0.25 ± 0.01

* Media ± desviación estándar (6-8 ratas por lote). Prueba estadística Student-Newman-Keuls.

^a p<0.05 con respecto a L. ^b p<0.01 con respecto a C.

g (gramos), mg (miligramos), Kcal (kilocalorías), P^{0.75} (masa metabólicamente activa).

TABLA 4
Peso corporal, peso del timo y número total de timocitos de los lotes experimentales y control bien nutrido *

Lote	Peso corporal	Peso del timo		Número total de timocitos ¹
	g	mg	mg / P ^{0.75}	células.10 ⁻⁷ /timo
D (31-33 días)	28.90 ± 3.70	34.50 ± 24.70	2.80 ± 2.10	1.80 ± 0.70
Cas (41-43 días)	74.50 ± 7.29 ^a	265.03 ± 47.48 ^a	9.60 ± 2.64 ^a	44.48 ± 8.20 ^{abc}
L (41-43 días)	83.68 ± 8.85 ^a	238.11 ± 56.32 ^a	9.24 ± 1.70 ^a	56.45 ± 14.72 ^{ab}
C (41-43 días)	70.88 ± 7.48 ^a	226.92 ± 65.71 ^a	9.23 ± 2.16 ^a	23.70 ± 4.04 ^a

* Media ± desviación estándar (6-8 ratas por lote). Prueba estadística Student-Newman-Keuls.

¹ Fueron leídas 400-800 células. ^a p<0.01 con respecto a D.

^b p<0.01 con respecto a C. ^c p<0.05 con respecto de L.

g (gramos), mg (miligramos), P^{0.75} (masa metabólicamente activa).

Perfil lipídico

El grupo experimental de ratas alimentado con la dieta L presenta valores de colesterol total, HDL-colesterol, LDL-colesterol menores (p<0.01) y de TG mayores (p<0.05) cuando se lo compara con Cas (Tabla 5).

La concentración de TG en Cas no fue estadísticamente diferente a la del lote C, sin embargo, los valores tendieron a cifras menores.

TABLA 5
Perfil lipídico de los lotes experimentales*

Lote	Colesterol total mmol/L	Triglicéridos mmol/L	HDL-colesterol mmol/L	LDL-colesterol mmol/L
Cas	4.26 ± 0.36 ^a	0.87 ± 0.20	2.16 ± 0.39 ^a	1.77 ± 0.38 ^{ac}
L	2.47 ± 0.30	1.16 ± 0.21 ^b	0.71 ± 0.12	1.07 ± 0.42
C	3.94 ± 0.21 ^{ab}	1.14 ± 0.53	2.27 ± 0.24 ^a	1.20 ± 0.30

* Media ± desviación estándar (6-8 ratas por lote). Prueba estadística Student-Newman-Keuls.

^a p<0.01 con respecto a L.

^b p<0.05 con respecto a D.

^c p<0.01 con respecto a C.

Perfil de ácidos grasos

No se observaron diferencias significativas a un nivel de significancia del 5% al comparar los niveles séricos de los ácidos mirístico, palmítico, esteárico, oleico, linoleico y linoléico entre los grupos experimentales.

Las concentraciones del ácido araquidónico tampoco fueron diferentes, sin embargo, Cas presentó una tendencia a cifras menores.

Los niveles séricos de EPA sólo fueron estadísticamente superiores en el grupo que recibió 24 mg/día de EPA+DHA (p<0.01), siendo las concentraciones de DHA mayores tanto en Cas (p<0.01) como en L (p<0.05) al compararlos con C (Tabla 6).

La relación n-6/n-3 en suero de los grupos Cas y L disminuyó significativamente con respecto a C (p<0.01).

TABLA 6
Composición en ácidos grasos séricos expresados
como porcentajes de ácidos grasos totales *

Acidos grasos	C	Cas %	L
Mirístico	1.12 ± 0.71	0.63 ± 0.10	0.51 ± 0.20
Palmítico	18.66 ± 0.97	18.85 ± 1.34	17.75 ± 0.66
Esteárico	16.27 ± 1.29	14.03 ± 0.83	14.22 ± 2.27
Oleico	12.29 ± 1.38	11.97 ± 0.45	10.92 ± 0.53
Linoleico	17.73 ± 0.01	17.82 ± 2.62	21.87 ± 4.61
Linolénico	0.19 ± 0.14	0.53 ± 0.34	0.80 ± 0.53
Araquidónico	13.92 ± 5.80	8.93 ± 1.74	15.16 ± 3.44
Eicosapentaenoico	0.29 ± 0.05 ^a	1.34 ± 0.17	0.54 ± 0.44 ^a
Docosahexaenoico	0.50 ± 0.24	2.02 ± 0.43 ^b	1.57 ± 0.52 ^c
Relación n-6/n-3	32.29	6.88	12.73

* Media ± Desviación Estándar (6-8 ratas por lote). Prueba estadística Student-Newman-Keuls.

^a p<0.05 con respecto de Cas.

^b p<0.01 con respecto de C.

^c p<0.05 con respecto de C.

DISCUSION

El tejido linfoide y en especial el timo de ratas en período de crecimiento activo, es uno de los órganos más afectados por la desnutrición proteica severa al destete, experimentando no sólo cambios en su tamaño y peso sino también alteraciones en su diferenciación córticomédular. Estas circunstancias convierten al timo en un verdadero barómetro de la malnutrición (3).

En trabajos previos, se ha observado que la administración oral durante 10 días de una dieta de recuperación al 20% de caseína no fue suficiente para revertir el efecto de la desnutrición proteica severa al destete sobre el timo (8).

En el presente estudio uno de nuestros objetivos fue analizar y comparar el efecto que diferentes dietas de recuperación enriquecidas en ácidos grasos poliinsaturados producen sobre el timo. Hemos comprobado que tanto la suplementación con 24 mg/día de EPA+DHA como la utilización de una leche en polvo de origen comercial parcialmente descremada y modificada en el perfil de sus ácidos grasos, permitieron estimular significativamente la proliferación celular en dicho órgano, siendo a pesar de ello insuficientes para recuperar el peso corporal de los animales (7,8,28). Esto podría ser consecuencia de que las ratas se encuentran retrasadas en su crecimiento por el efecto de la depleción proteica severa y sea necesario un período de recuperación mayor.

El otro punto a estudiar fue el efecto final que ambas dietas (caseína al 20% suplementada con 24 mg/día de EPA + DHA y la leche comercial enriquecida en ácidos linoleico y linolénico) tienen sobre el perfil lipídico y de ácidos grasos séricos.

Se sabe que los alimentos que presentan incorporación de lípidos marinos suelen tener un olor típico generalmente

reconocido como “olor o sabor a pescado” que puede provocar el rechazo del mismo. En el caso particular del presente trabajo podemos afirmar que los animales no experimentaron rechazo hacia ninguna de las dietas, y en particular en el grupo Cas, siendo el consumo diario de las mismas estadísticamente similar (37).

El tipo y la cantidad de grasa que los humanos obtienen habitualmente de la dieta, tienen un efecto directo tanto en la concentración de los lípidos plasmáticos como de las distintas lipoproteínas. Así, elevados niveles de ciertas lipoproteínas como: VLDL, IDL, LDL, Apo B y Lp(a) incrementarán significativamente el riesgo coronario, mientras que altas concentraciones de HDL-colesterol y Apo AI serán responsables de disminuir dicho riesgo (9-11).

La Organización Mundial de la Salud en su informe sobre grasas y aceites en la nutrición humana ha recomendado una relación n-6/n-3 en la dieta de 5-10/1 como aconsejable para prevenir cuadros de aterosclerosis y riesgo cardiovascular (38). En el caso de las dietas analizadas en este reporte podemos afirmar que las mismas se encuentran dentro del rango de referencia propuesto por este organismo: L = 7.6/1 y Cas = 8.1/1.

Los aceites de pescado son ampliamente conocidos por sus propiedades hipolipemiantes. En el presente trabajo hemos observado que la administración oral de la dieta preparada a partir de la leche comercial con igual contenido de AGPI n-3, provocó una disminución significativa en los niveles séricos del Colesterol Total, mientras que la concentración de los TG se incrementó al compararlo con Cas.

La disminución en la concentración del colesterol total observada en el grupo L podría estar justificada por la presencia de fitoesteroles que son aportados por el aceite de canola. Estos esteroides pueden encontrarse tanto libres como esterificados y de ellos los hallados en mayor proporción son el campesterol y el sitosterol (27.6% y 52.3%, respectivamente). Pero además, se destaca la presencia del Brassicasterol (13.8%) que se caracteriza por encontrarse únicamente en el aceite de canola y colza, lo cual es utilizado para detectar la presencia de éstos en otros aceites de consumo habitual (39).

Al comparar el aceite de canola con otros aceites como el de soja se ha visto que la cantidad total de esteroides en la canola es un 50% mayor que en la soja.

Otro aceite rico en fitoesteroides pero con cantidades superiores a la canola es el aceite de maíz. Cabe destacar que durante los últimos años han sido numerosos los trabajos publicados a nivel internacional en los que se resalta el efecto beneficioso de los esteroides de las plantas y sus derivados sobre las concentraciones séricas del colesterol en humanos, sin que este comportamiento se hiciera extensivo a los TG (39).

En el presente estudio la dieta del grupo Cas se preparó utilizando aceite de maíz como fuente de lípidos, mientras

que la dieta del grupo L es a base de una leche comercial en polvo que fue enriquecida en aceite de maíz y de canola. Por lo tanto, teniendo en cuenta esta diferencia, podemos suponer que los fitoesteroles de la canola, presentes sólo en el grupo L, podrían ser responsables de ocasionar esa marcada disminución en la concentración sérica del colesterol.

Los mayores niveles de TG en el grupo L podrían ser explicados teniendo en cuenta lo siguiente. El consumo total de dieta y energía fue similar en ambos grupos experimentales (Cas y L). Sin embargo, la ingesta de lípidos fue mayor en L debido a los niveles de materia grasa en la matriz láctea. La leche comercial aporta 14.4 gramos de lípidos cada 100 gramos de producto de los cuales el 32% son ácidos grasos saturados. La dieta final aporta 3.02 gramos de grasa saturada cada 100 gramos de dieta. Además, en la fórmula fueron incluidos aceites de canola y maíz, fuentes de AGPI n-3 y n-6, con el objeto de mejorar el patrón de ácidos grasos esenciales (aceite de canola: 18.7% de ácido linoleico y 9.2% de ácido linolénico; aceite de maíz: 57.0% de ácido linoleico y 0.9% de ácido linolénico).

Por otra parte, la dieta experimental de caseína suplementada fue preparada usando solamente aceite de maíz y adicionada con aceite de salmón de origen comercial que contiene EPA (17.14%) y DHA (12.21%). La dieta final así preparada aporta 0.83 gramos de ácidos grasos saturados en 100 gramos de dieta.

La diferencia en el contenido de grasa saturada entre ambas dietas podría estar justificando la mayor concentración de TG en el grupo que recibe la leche modificada.

Por otra parte, los ácidos grasos de las familias n-6 y n-3 comparten las mismas enzimas involucradas en la ruta biosintética (elongasas y desaturasas) presentando los AGPI n-3 una mayor afinidad por ellas. Además, el EPA puede inhibir en forma efectiva a la enzima $\Delta 5$ -desaturasa bloqueando la transformación de ácido dihomogammalinolénico (obtenido a partir del ácido linoleico) en ácido araquidónico. Sin embargo, altos valores de ácido linoleico pueden inhibir la transformación de linolénico en EPA y DHA desplazando el equilibrio hacia la serie n-6 (40,41).

En el presente trabajo, las concentraciones séricas de los ácidos linoleico y linolénico tanto en L como en Cas no mostraron diferencias estadísticas significativas entre sí. Sin embargo, se observa que L presenta una tendencia a valores mayores.

La concentración sérica de ácido araquidónico fue mayor aunque no estadísticamente diferente en L debido a la incorporación de aceites de canola y maíz (ricos en ácido linoleico) a la matriz dietaria, mientras que en Cas fueron menores pero no estadísticamente diferentes en respuesta a la suplementación con EPA y al efecto inhibitorio provocado por este ácido graso sobre la enzima $\Delta 5$ -desaturasa.

Los valores de EPA y DHA fueron mayores y

estadísticamente diferentes en Cas como consecuencia de la adición del aceite de salmón a la dieta experimental. El grupo L también presentó niveles séricos de DHA estadísticamente superiores a los de C y comparables a los de Cas. Podemos suponer que esta concentración se incrementó por síntesis a partir del ácido linolénico aportado por la matriz láctea, sin que esto se reflejara en mayores niveles séricos de EPA.

La disminución en la concentración sérica de los TG observado en el grupo Cas podría adjudicarse a los mayores niveles de EPA encontrados en suero como consecuencia de la suplementación con aceite de pescado.

Como se ha mencionado con anterioridad el efecto de los aceites de pescado sobre los niveles de LDL-colesterol y HDL-colesterol es controversial. Algunos autores afirman que los niveles de LDL-colesterol se incrementan en respuesta a la disminución que las concentraciones de los TG experimentan ante la ingesta de pescado, reportándose además un efecto favorable sobre las concentraciones de HDL. Sin embargo, otros declaran que la síntesis de ambas lipoproteínas se reduce luego de la administración de altas concentraciones de EPA y DHA.

En este trabajo, Cas presenta concentraciones séricas de HDL-colesterol y LDL-colesterol mayores ($p < 0.01$) que el grupo L. Esta diferencia en las concentraciones de las lipoproteínas podría ser el resultado de las diferentes fuentes de AGPI n-3 presentes en las dietas. El contenido de esteroides aportados por los aceites vegetales en el grupo L disminuiría los niveles séricos de la fracción LDL-colesterol y HDL-colesterol en concordancia con lo reportado por la bibliografía internacional (39). Esta disminución podría ser considerada un efecto promisorio para tratar de disminuir el riesgo coronario aún cuando debería también acompañarse de un aumento en la fracción de HDL-colesterol.

Es importante destacar que la relación n-6/n-3 sérica en los grupos Cas y L experimentó una disminución significativa con respecto al control C como consecuencia de la modificación en el perfil lipídico de la dieta administrada a cada grupo experimental.

En el presente trabajo puede observarse que el efecto hipocolesterolemico de la dieta preparada utilizando la leche comercial sería más efectivo que la utilización de un suplemento de pescado, sin que esto pueda explicarse por la mayor concentración de AGPI n-3 en suero o la menor relación n-6/n-3 sérica. Tal como se mencionó previamente, los fitoesteroides podrían tener efecto en este sentido.

Finalmente, los ácidos mirístico y especialmente palmítico son bien conocidos por sus propiedades hipercolesterolemicas (9). En el presente estudio, no se observaron diferencias estadísticas significativas en las concentraciones séricas de estos ácidos grasos saturados presentando incluso los grupos experimentales una tendencia a valores menores. Por otra parte, las concentraciones séricas de ácido esteárico y oleico

tampoco fueron estadísticamente diferentes.

El reporte del AIN 93 estableció los niveles de Vitamina E para la preparación de las dietas experimentales considerando los niveles de AGPI utilizados en la formulación de dichas dietas para proteger contra el estrés oxidativo. En este trabajo, las dietas experimentales L y Cas aportan cantidad suficiente de Vitamina E para prevenir este efecto (30).

En el caso de la dieta preparada con la leche comercial se utilizaron aceites de canola y maíz, fuentes naturales de vitamina E y además esta leche en polvo se encuentra fortificada en Vitamina E presentando un contenido de 13.1% según rótulo comercial.

En el caso de la dieta Cas el contenido de Vitamina E de acuerdo a AIN 93 cubre ampliamente la relación propuesta entre miligramos de Vitamina E y gramos de EPA y DHA, descripta en la bibliografía internacional (42).

El estudio realizado resalta los efectos favorables propios de la inclusión en la dieta habitual de los AGPI n-3 poniendo de relieve tanto su capacidad para actuar como nutrientes inmunomoduladores así como su rol hipolipemiante, el cual dependerá del tipo de ácidos grasos usados en la elaboración de la matriz alimentaria.

AGRADECIMIENTOS

El estudio fue financiado por la Universidad de Buenos Aires (B-060 y B-120). Los autores quieren agradecer al Dr. Germán Valcarce por la realización de las corridas cromatográficas y su ayuda en la interpretación de los resultados; a la Sra. Lía C. De Calafat por su asistencia técnica en la elaboración de las dietas y cuidado de los animales y a los Laboratorios Wiener por su contribución con los reactivos de trabajo.

REFERENCIAS

- Scrimshaw NS and SanGiovanni JP. Synergism of nutrition, infection and immunity: an overview. *Am J Clin Nutr* 1997; 66: 464S-77S.
- Chandra RK. Nutrition and the immune system: an introduction. *Am J Clin Nutr* 1997; 66 :460S-63S.
- Chandra, RK. 1990 McCollum Award Lecture. Nutrition and Immunity: lessons from the past and new insights into the future. *Am J Clin Nutr* 1991; 53: 1087-101.
- Slobodianik NH, Pallaro AN, López MC, Roux ME and Rfo ME. Effect of short term protein refeeding on the thymus of growing rats after marginal and severe protein deficiency. *Nutr Res* 1989; 9 (8) : 921-29.
- Pallaro A.N. Efecto de la calidad proteica sobre el timo de ratas en período de crecimiento activo. Tesis doctoral. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad de Buenos Aires. 1996.
- Pallaro AN, Roux ME and Slobodianik NH. Nutrition Disorders and Immunological Parameters: Study of the Thymus in Growing Rats. *Nutrition* 2001; 17: 724-28.
- Fernandez I, Feliu MS, Pallaro AN and Slobodianik NH. Efecto de los ácidos grasos poliinsaturados n-3 PUFA sobre el timo de ratas con depleción proteica severa. *Medicina (Bs.As.)* 1997; 57: 72-4.
- Fernandez I, Bermúdez MJN, Pallaro AN and Slobodianik NH. Importancia de los ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-3 (AGPI n-3) en la recuperación nutricional. *Arch Latinamer Nutr* 1999; 49(1):26-31.
- Kris-Etherton PM, Harris WS and Appel LJ. Fish consumption, fish oil, omega-3 fatty acids, and cardiovascular disease. *Circulation* 2002; 106: 2747– 57.
- Kummrow E, Hussain M M, Pan M, Marsh JB and Fisher EA. Myristic acid increases dense lipoprotein secretion by inhibiting apoB degradation and triglyceride recruitment. *J. Lipid Res.* 2002; 43: 2155–63.
- Connor WE. Importance of n-3 fatty acids in health and disease. *Am J Clin Nutr* 2000; 71: 1(S): 171S-75S.
- von Schacky C. n-3 Fatty acids and the prevention of coronary atherosclerosis. *Am J Clin Nutr* 2000; 71; 1(S): 224S-27S.
- Griffin BA. The effect of n-3 fatty acids on low density lipoprotein subfractions. *Lipids* 2001; 36(S): 91-7.
- Ikeda I, Kumamaru J, Nakatani N, Sakono M, Murota I and Imaizumi k. Reduced Hepatic Triglyceride Secretion in Rats Fed Docosahexaenoic Acid-Rich Fish Oil Suppresses Postprandial Hypertriglyceridemia. *J. Nutr.* 2001; 131: 1159–64.
- Buckley R, Shewring B, Turner R, Yaqoob P and Minihane AM. Circulating triacylglycerol and apoE levels in response to EPA and docosahexaenoic acid supplementation in adult human subjects. *Br. J Nutr.* 2004; 9(3): 477-83.
- Park Y and Harris WS. Omega-3 fatty acid supplementation accelerates chylomicron triglyceride clearance. *J. Lipid Res.* 2003; 44: 455–63.
- Lombardo T YB and Chicco AG. Effects of dietary polyunsaturated n-3 fatty acids on dyslipidemia and insulin resistance in rodents and humans. A review. *J Nutr Biochem.* 2006; 17: 1-13.
- Harris WS. n-3 fatty acids and human lipoprotein metabolism: an update. *Lipids* 1999; 34(S): S257-58.
- Laidlaw M and Holub BJ. Effects of supplementation with fish oil-derived n-3 fatty acids and γ -linolenic acid on circulating plasma lipids and fatty acid profiles in women. *Am J Clin Nutr* 2003; 77: 37–42.
- Norum KR . Dietary fat and blood lipids. *Nutr Rev* 1992; 50(4): 30-7.
- Din JN, Newby DE and Flapan AD. Omega 3 fatty acids and cardiovascular disease—fishing for a natural treatment. *BMJ* 2004; 328: 30– 5.
- Nestel PJ. Fish oil and cardiovascular disease: lipids and arterial function. *Am J Clin Nutr* 2000; 71; 1(S): 228S-31S.
- Drevon CA. Marine Oils and Their Effects. *Nutr Rev* 1992; 50(4):38-45.
- Calder PC. Polyunsaturated fatty acids, inflammation and immunity. *Lipids* 2001; 36(9): 1007-24.
- Harris WS. n-3 Fatty acids and lipoproteins: Comparison of results from human and animal studies. *Lipids* 1996; 31(3):243-52.
- Connor WE. Fish oil in hipertriglyceridemia : safety and recommendations. *Lipids* 1999; 34(S): 271.

27. Simopoulos AP. n-3 fatty acids and human health: defining strategies for public policy. *Lipids* 2001; 36(S): 83-9.
28. Fernandez I, Feliu MS, Slobodianik NH and Pallaro AN. Oral Administration of Dipeptiven ® or a milk formula enriched with n-3 PUFA: Effect on thymus of growing rats [abstract]. *Ann. Nutr Metab.* 2001; 45(suppl 1): 291.
29. Introzzi A, Paglione AM, Slobodianik NH, López MC y col. Incorporación de ácidos grasos de aceite de calamar a lipoproteínas plasmáticas en ratas. *Medicina (Bs.As.)* 1991; 51 (2); 143-47.
30. Reeves P G, Forrest H. N, and Fahey G. C. AIN-93 Purified Diets for Laboratory Rodents: Final Report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the Reformulation of the AIN-76 Rodent Diet. *J Nutr* 1993; 123: 1939-51.
31. Slobodianik NH. Estudios de las Interrelaciones entre Nutrición y Respuesta Inmune en modelo Experimental, en ratas en crecimiento. Tesis doctoral. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. UBA. 1985.
32. Friedewald W.T., Levy R.I. and Fredrickson D.S. Estimation of the concentration of low density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem*, 1972; 18 (6): 499-502.
33. Shantha NC and Napolitano GE. Gas chromatography of fatty acids. *J Chromat* 1992; 624:37-51.
34. Welz W, Sattler W, Leis HJ and Malle E. Rapid analysis of non-esterified fatty acids as methyl esters from different biological specimens by gas chromatography after one-step esterification. *J Chromat* 1990; 526: 319-29.
35. Mendenhall W, Wackerly D, Sheaffer R. *Estadística matemática con aplicaciones*. 2da Edición. Grupo Editorial Iberoamericana, 1994.
36. Schwartz D. *Methods statistiques. a l' usage des medecins et des biologistes*. De. Medicales Flammarion Paris, 1963.
37. Ayerza, R (h) and Coates W. The omega-3 enriched eggs: the influence of dietary linolenic fatty acid source combination on egg production and composition. *Canadian J Animal Sci*, 2001; 81: 355-62.
38. World Health Organization. *Fats and oils in human nutrition: report of a joint expert consultation*. Food and Agriculture Organization of the United Nations and the World Health Organization. *FAO Food Nutr Pap* 1995; 57: 1-147.
39. Hendriks HFJ, Weststrate JA, van Vliet T and Mijeer GW. Spreads enriched with three different levels of vegetable oil sterols and the degree of cholesterol lowering in normocholesterolaemic and mildly hypercholesterolaemic subjects. *Eur. J. Clinical Nutr.* 1999; 53: 319-27.
40. Borno S, Reymúndez ME and Bosch V. Essential fatty acid status in malnourished children. *Lipids* 1999; 34(S): 233.
41. Valenzuela BA. El ácido docosahexanoico (DHA): su esencialidad y requerimientos. *Rev Chil* 1999; 26(3): 279-87.
42. Allard JP, Kurian R, Aghdassi E, Muggli R and Royall D. Lipid peroxidation during n-3 fatty acid and vitamin E supplementation in humans. *Lipids* 1997; 32 (5): 535-41.

Recibido: 29-03-2007

Aceptado:27-06-2007

Alimentación y suficiencia energética en indígenas migrantes de los Altos de Chiapas, México

Isabel Reyes Posadas, Austreberta Nazar Beutelspacher, Erin Estrada Lugo, Verónica Mundo Rosas

Colegio de la Frontera Sur. San Cristóbal de las Casas Chiapas, México. Centro de Investigación en Nutrición y Salud.
Instituto Nacional de Salud Pública. Cuernavaca, Morelos, México

RESUMEN. La población que ha migrado de las zonas rurales a áreas urbanas está sujeta a cambios en sus patrones de alimentación y es considerado un grupo de población vulnerable en términos de seguridad alimentaria. Se describe la dieta de la población indígena inmigrante en la ciudad de San Cristóbal de Las Casas, en el estado de Chiapas, México, analizando los factores que contribuyen a la suficiencia en la ingesta calórica de 143 familias. Estudio transversal basado en una entrevista estructurada donde se obtuvo información con variables socioeconómicas, la variedad y tipo de alimentos disponibles en el hogar, y la suficiencia en la cantidad de calorías per cápita ajustadas a los requerimientos por edad y sexo. Se usaron pruebas estadísticas no paramétricas para estimar la relación entre el nivel de ingreso de la población y el número de calorías disponibles. El nivel de ingresos se asoció al número de calorías disponibles en los hogares; sin embargo, no existe una asociación significativa entre el tiempo de haber llegado a la ciudad y el tipo y variedad de alimentos disponibles que consumen estas familias. Los resultados evidencian que la proporción de familias que cubren la ingesta calórica requerida es de 91.3%; la población con menores ingresos presenta un porcentaje más bajo de este indicador, a la vez que se reporta una deficiencia importante de proteínas y nutrientes como el calcio y la vitamina A. Se discuten las implicaciones de la migración rural-urbana de población indígena en relación a la calidad de la dieta.

Palabras clave: Chiapas, dieta, nutrición, indígenas, migración, seguridad alimentaria.

SUMMARY. Diet and caloric sufficiency in the migrant indigenous population of the Altos Region of Chiapas, México. The population that has migrated from rural zones to urban areas is subject to changes in their dietary patterns and is considered a vulnerable population group in terms of food security. This article describes the diet of the immigrant indigenous population in the city of San Cristóbal de Las Casas, analyzing the factors that contribute to adequate calorie consumption in 143 families. This is a cross-sectional study based on a structured interview in which information was obtained related to socio-economic variables, the variety and types of foods in the home, and adequate calorie consumption per capita based on requirements according to age and sex. Using nonparametric statistical tests, the relationship between the population's income level and the number of calories available was determined. Results show a significant association between the income level of the population and the number of calories available in homes; however, there is not a significant association between the amount of time a family has lived in the city and the type and variety of foods available to and consumed by these families. Results show that 91.3% of these families ingest the suggested calorie consumption; the population with the lowest income levels represents a lower percentage of this indicator, and also showed significant deficiencies in proteins and nutrients such as calcium and vitamin A. The implications of rural-urban migration by indigenous populations in relation to diet quality are discussed.

Key words: Chiapas, diet, nutrition, indigenous, migration, food security.

INTRODUCCION

La alimentación es un proceso complejo y dinámico afectado por factores biológicos, económicos y socioculturales (1-3). Actualmente se reconoce la importancia de los cambios en la alimentación asociados a la generalización del estilo de vida occidental (4).

La población que migra de las zonas rurales a sitios urbanos está sujeta a cambios en la alimentación por lo que se considera como un grupo potencialmente vulnerable en cuanto a la seguridad alimentaria (5-8). La seguridad alimentaria es definida como "el acceso a una canasta básica de alimentos nutricionalmente apropiada, segura y culturalmente aceptable procurando en una forma consistente satisfacer otras necesidades humanas en forma sostenible (7). Uno de sus

principales componentes es la suficiencia en la ingesta de calorías.

Instituciones de carácter internacional como la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) consideran de suma importancia conocer y mejorar las condiciones de seguridad alimentaria en la población inmigrante a las zonas urbanas (5). Según estas organizaciones, además de las modificaciones en la dieta, los migrantes enfrentan el problema del acceso económico a los alimentos. Se estima que los consumidores urbanos pobres gastan entre un 60-80% de sus ingresos en alimentación (FAO). Esto los hace especialmente vulnerables al incremento de precios en alimentos, sobre todo porque en estos asentamientos se obtienen prácticamente en su totalidad, mediante compra.

El estado de Chiapas se encuentra en el sureste de la República Mexicana y es una de las tres entidades más pobres del país. Dentro de ésta, la población indígena rural de los Altos de Chiapas, es particularmente marginada (10).

La migración de la población rural a la ciudad más importante de la región, San Cristóbal de Las Casas (9), se ha incrementado en las últimas tres décadas. Esta ciudad tiene un crecimiento acelerado como resultado de problemas político-religioso, económicos y el conflicto armado con la aparición del EZLN (Ejército Zapatista de Liberación Nacional) en 1994 (10-13).

Este estudio caracteriza los patrones de alimentación y estima la suficiencia en la disponibilidad de energía y nutrientes en población indígena migrante de los Altos de Chiapas, México. Se enfatiza la relación entre la disponibilidad de alimentos y energía con el nivel de ingresos de la población. Se discuten estos hallazgos a la luz de sus implicaciones para la seguridad alimentaria y la educación nutricional en estos grupos poblacionales.

MÉTODOS

Población en estudio

Se realizó un estudio transversal en dos de las 93 colonias urbanas marginales de la ciudad de San Cristóbal de Las Casas, Chiapas. Dichas colonias, fueron seleccionadas ya que reunían las siguientes características: casi la totalidad de sus habitantes son indígenas, inmigrantes de primera generación, con disposición de colaborar en la investigación y cuyas autoridades apoyaron el trabajo realizado. Se incluyeron solamente las familias de origen indígena. Se obtuvo información probabilística sobre la frecuencia semanal de alimentos, los datos socioeconómicos de los grupos domésticos y la producción doméstica de alimentos.

Instrumentos de recolección de información

La información se recopiló mediante dos cédulas estructuradas, compuestas por preguntas cerradas y abiertas para indagar sobre la cantidad de alimentos disponibles y frecuencia de consumo durante una semana; aspectos sociales, económicos y de las características migratorias de las familias (tiempo de residencia en la ciudad, motivo de migración, estrategias para el establecimiento de la familia en la ciudad, ocupación, escolaridad y estado civil, entre otras). Los cuestionarios fueron sometidos a una prueba piloto en asentamientos similares, lo que permitió adecuarlos, conocer los alimentos que la población consume con mayor frecuencia y la variabilidad en la disponibilidad y preferencia de consumo de alimentos y, con base en ello estimar el tamaño de muestra. En la colonia 4 de Marzo, por su tamaño: 23 familias, fue censada para recabar la información de la totalidad de ellas. En la segunda colonia, 1 de enero, se realizó un muestreo

aleatorio simple entre los 526 grupos domésticos que conforman este asentamiento, lo que resultó en un tamaño mínimo de muestra de 139 familias. La información fue obtenida en el periodo abril-mayo de 2005; las entrevistas fueron realizadas por la investigadora principal y una persona hablante de lenguas Tzotzil y Tzeltal que trabajó en la traducción simultánea de preguntas y respuestas durante las entrevistas que así lo requerían. Se realizaron ocho entrevistas en profundidad con personas seleccionadas de acuerdo con su edad y origen étnico para obtener información sobre los cambios que consideran haber tenido en su alimentación a partir del proceso de inmigración a la ciudad.

Construcción de índices

El ingreso total mensual representa la suma de las cinco fuentes económicas identificadas en la población en estudio para cada miembro de la familia: el ingreso por actividad económica principal; por actividades secundarias; ayuda alimentaria (que provee el programa federal de asistencia OPORTUNIDADES), apoyos para la producción de alimentos (en el caso de que el grupo doméstico conservaba su parcela); y contribuciones económicas de miembros de la familia que trabajan fuera de la ciudad. Esta variable fue registrada en pesos (1 USD= 10.71 pesos mexicanos). Esta variable, se contabilizó considerando el ingreso obtenido en el mes previo a la entrevista. Se obtuvo el ingreso mensual per cápita, el cual se ajustó por el número de miembros de la familia. A partir de lo anterior se establecieron dos categorías: a) menos de medio salario mínimo mensual, *muy pobres* (equivalente a \$660.75 pesos; 61.7 USD); y b) más de medio salario mínimo mensual, *pobres* (el monto máximo registrado fue de \$3 527.00 pesos; 329.3 USD).

La variedad de alimentos se estimó como la cantidad de alimentos diferentes que reporta el grupo doméstico haber consumido dentro del hogar en la semana previa a la entrevista. Fue posible contabilizar la cantidad de los alimentos disponibles por la familia en kilogramos y litros. Estos datos se convirtieron a cantidad de kilocalorías totales y fueron divididos entre el número de miembros de familia; a partir de estos datos fue calculada la adecuación de los requerimientos calóricos per cápita ajustados a edad y sexo, considerando que la adecuación es la relación porcentual entre el aporte calórico total obtenido de la disponibilidad de alimentos, y la suma de recomendaciones de consumo de todos los miembros de la familia. Este índice se calculó de acuerdo a la tabla de recomendaciones nutricionales reconocidas por el Instituto Nacional de Salud de México (14-18).

Análisis estadístico

Para establecer diferencias en la variedad de alimentos consumidos según el estrato económico se aplicó la prueba Chi cuadrada de máxima verosimilitud para diferencia de

proporciones para dos estrados de la muestra general (19). A través de la prueba U de Mann Whitney (20) se analizó la diferencia en la variedad de alimentos consumidos de acuerdo con la producción o no de alimentos de traspatio por el grupo doméstico y las diferencias en el promedio de consumo de energía según las categorías de ingresos y tiempo de migración.

Con base en la prueba Chi cuadrada de Pearson (21), la calidad de la dieta se estableció como relación entre la cantidad y origen de las calorías consumidas en los grupos domésticos, comparadas con las recomendaciones diarias de nutrimentos.

Finalmente se realizó un modelo de regresión lineal general (21) para evaluar el nivel de predicción del tiempo de migración y el monto de ingreso per cápita en el consumo de energía. Los datos fueron procesados en el programa SPSS versión 11.5 para Windows.

RESULTADOS

Características socioeconómicas de la población en estudio

Se obtuvo información de 143 grupos domésticos. La tasa de no respuesta fue de 7.7%. Del total de personas registradas por la encuesta, 43.0% es Tzotzil, 39.0% Tzeltal y 15.0% se definen como indígenas pero no hablan ninguna lengua indígena. Solo 20.1% de la población mayor de 15 años, concluyó el nivel básico (75 personas) y 79 individuos más (21.2%), es analfabeta. Solamente un tercio (33.8%) aporta ingresos al hogar, con un índice de dependencia de 2.32 (DE=1.85).

El 74.1% de los hogares son nucleares y un porcentaje elevado (17.5%) son encabezados por mujeres, en este rubro, la media nacional es de 20.6% y en el estado de Chiapas de 16.6% del total (INEGI, 2000). El ingreso per cápita mensual promedio de estos grupos domésticos es de 664.4 pesos, que corresponde a 22.1 pesos al día, la mitad del salario mínimo en la región, con un rango de 1.84 a 119.3 pesos (55.1 a 3,583 pesos mensuales). El 59.4% de los grupos domésticos destinan entre el 75.0% y el 100.0% de sus ingresos semanales a la compra de alimentos. El 80.4% de estos grupos domésticos son propietarios de la casa donde viven explicado porque invadieron estos terrenos durante 1994; sin embargo, son considerados asentamientos irregulares y no tiene certeza jurídica de su propiedad. Las condiciones de vivienda son precarias: 39.0% no cuentan con drenaje, 38.5% tienen piso de tierra y en 69.2% de sus habitantes viven en hacinamiento (Tabla 1).

El terreno donde se ubica la vivienda es de aproximadamente 200 m²; solo algunas familias destinan el lugar de traspatio (aproximadamente 100 m²) a la producción de hortalizas, maíz o aves de corral, y la cantidad de éstas no rebasa 12 aves de corral por grupo doméstico.

TABLA 1
Características socioeconómicas y migratorias
de los grupos domésticos. Colonias urbanas marginales
de San Cristóbal de Las Casas, 2005

Variables descriptivas	Total n=143 %
Etnia	
Tzotzil	51.7
Tzeltal	44.8
Otras etnias	3.5
Jefatura de hogar	
Masculina	82.5
Femenina	17.5
Tipo de grupo doméstico	
Nuclear	74.1
Extenso	25.9
Ingreso <i>per cápita</i> mensual del grupo doméstico	
< de medio salario mínimo mensual	62.3
>= a medio salario mínimo mensual	37.7
Promedio	664.40 peso mexicano (1 DS =10.71 pesos mexicanos)
DS	548.27
Porcentaje de ingresos destinados a la compra de alimentos	
25 a 50%	10.5
50 a 75%	30.1
75 al 100%	59.4
Promedio/ DE	80.5 (±20.0)
Tenencia de parcela en sus comunidades de origen	
Sí	11.2
No	88.8
Producción de alimentos de traspatio	
Sí	28.7
No	71.3
Características de la vivienda	
Sin drenaje	39.0
Con piso de tierra	38.5
Hacinamiento (>2.5 personas por dormitorio)	69.2
Tiempo de migración *	
Menos 5 años	18.9
5 a 10 años	29.4
10 y más	51.7
Motivo de migración	
Búsqueda de trabajo	51.7
Por estudios	25.1
Inseguridad y violencia por problemas político-religiosos	7.7
Actividad remunerada del jefe o jefa de familia	
Empleado de establecimiento	21.7
Peón	13.3
Comerciante	11.2
Chofer	7.8
Albañil	6.3
Otros (empleada doméstica, artesanos, cargadores entre otros)	39.7

*(Tomando como referencia a la primera persona que migró dentro del grupo doméstico)

Variedad de la dieta

Existe una disponibilidad promedio de 22 ± 5 alimentos diferentes en esta población. En promedio, la dieta se define por 6 alimentos diferentes del grupo de cereales, 7 alimentos en el grupo de frutas y verduras, 4 productos de origen animal y 4 productos industrializados. De los 46 alimentos considerados en la frecuencia semanal de alimentos, 16 presentan diferencias estadísticamente significativas y 9 más diferen-

cias marginalmente significativas, (valores de p entre 0.06 - 0.15) de acuerdo con el nivel de ingresos. Los grupos de alimentos que presentan las mayores diferencias entre los estratos de ingreso, son las frutas y los productos de origen animal (POA) que están disponibles en las familias con mejores ingresos. Los productos industrializados y el grupo de cereales estuvieron disponibles de manera más homogénea en las familias, independientemente de su nivel de ingresos (Tabla 2).

TABLA 2
Distribución de frecuencia de alimentos disponibles según categoría de ingresos de los grupos domésticos. Colonias urbanas marginales de San Cristóbal de Las Casas, 2005

Tipo de alimentos	Muy pobres (89)	Pobres (54)	X^2_{RV} (g.l.; valor p)	R.R. (IC _{95%})
Cereales				
Tortillas	0.96	1.00	3.8 (1; 0.04)	0.61 (0.54-0.70)
Arroz	0.84	0.94	3.6 (1;0.55)	0.72(0.55-0.90)
Sopa de pasta	0.84	0.92	2.2 (1;0.13)	0.77(0.58-1.03)
Pan	0.82	0.76	0.76 (1;0.38)	1.16(0.81-1.66)
Galletas	0.57	0.61	0.20 (1;0.65)	0.94(0.73-1.22)
Fríjol	0.96	0.96	0.05 (1;0.82)	0.93 (0.52-1.66)
Pan Bimbo	0.08	0.16	2.53 (1;0.11)	0.68(0.38-1.2)
Pozol	0.83	0.72	2.37 (1;0.12)	1.31 (0.89-1.92)
Tamales	0.17	0.31	4.04 (1;0.04)	0.70 (0.48-1.04)
Avena	0.05	0.12	2.18 (1;0.14)	0.63 (0.29-1.35)
Maicena	0.01	0.03	1.05 (1;0.31)	0.53 (0.11-2.64)
Frutas y verduras				
Chile	0.39	0.45	0.36 (1;0.54)	0.92 (0.71-1.20)
Tomate	0.95	1.00	3.86 (1;0.49)	0.61 (0.54-0.70)
Cebolla	0.91	0.96	1.58 (1;0.21)	0.76 (0.54-1.07)
Verdura de hoja	0.92	0.94	0.28 (1;0.58)	0.88 (0.57-1.35)
Plátano macho	0.14	0.29	5.41 (1;0.02)	0.64 (0.41-1.00)
Verdura de bola	0.59	0.76	4.11 (1;0.04)	0.77 (0.60-0.98)
Papa	0.78	0.89	3.09 (1;0.07)	0.77 (0.59-0.99)
Naranja	0.69	0.89	8.35 (1;0.004)	0.68 (0.54-0.85)
Plátano	0.53	0.78	9.2 (1;0.002)	0.68 (0.53-0.87)
Melón o papaya	0.10	0.18	2.0 (1;0.16)	0.73 (0.45-1.20)
Zanahoria	0.02	0.01	0.03 (1;0.87)	1.07 (0.48-2.41)
Mango	0.42	0.69	9.95 (1;0.002)	0.66 (0.51-0.87)
Ciruella	0.02	0.06	1.05 (1;0.31)	0.63 (0.22-1.87)
Manzana	0.06	0.27	13.43 (1;0.000)	0.37 (0.77-0.79)
Productos origen animal				
Pollo	0.62	0.87	11.33 (1;0.001)	0.65 (0.52-0.82)
Carne de res	0.33	0.60	9.8 (1;0.002)	0.65 (0.48-0.87)
Carne de cerdo	0.06	0.09	0.66 (1;0.42)	0.79 (0.42-1.5)
Huevo	0.79	0.89	2.58 (1;0.11)	0.78 (0.6-1.02)
Leche	0.34	0.56	6.58 (1;0.01)	0.70 (0.53-0.94)
Queso	0.49	0.60	1.31 (1;0.25)	0.86 (0.67-1.11)
Yogurt	0.16	0.34	5.85 (1;0.02)	0.65 (0.41-0.98)
Salchicha	0.08	0.18	3.52 (1;0.06)	0.63 (0.35-1.13)
Jamón	0.05	0.16	5.83 (1;0.02)	0.47 (0.21-1.07)
Pescado fresco	0.02	0.16	9.76 (1;0.002)	0.28 (0.08-0.97)
Crema /mantequilla	0.04	0.18	7.26 (1;0.007)	0.43 (0.19-1.01)
Chicharrón	0.03	0.09	2.12 (1;0.14)	0.59 (0.29-1.45)
Chorizo	0.04	0.12	2.18 (1;0.14)	0.63 (0.29-1.35)
Productos industrializados				
Azúcar	0.94	0.94	0.00 (1;0.98)	0.99 (0.57-1.73)
Dulces	0.57	0.54	0.18 (1;0.67)	1.06 (0.82-1.37)
Saborizante de agua	0.67	0.69	0.02 (1;0.89)	0.98 (0.75-1.29)
Aceite	0.88	1.00	10.98 (1;0.001)	0.59 (0.51-0.68)
Refresco	0.62	0.67	0.35 (1;0.56)	0.92 (0.71-1.2)
Frituras de bolsa	0.44	0.45	0.01 (1;0.94)	0.99 (0.77-1.28)
Pastelillos	0.11	0.18	1.44 (1;0.23)	0.78 (0.49-1.23)

La producción agropecuaria para autoconsumo se observó en 28.7% de los grupos domésticos. No se observó una relación estadísticamente significativa entre la producción doméstica y la variedad de alimentos consumidos ($p=0.72$).

Calidad de la dieta

Los requerimientos de proteína pueden ser cubiertos por el 70.0% de la población en general de acuerdo a los alimentos disponibles reportados. En el grupo de *muy pobres* 32.6% de la población cubre adecuadamente sus requerimientos de este nutrimento, en el grupo pobres, el 74.1% tiene un exceso en el consumo de proteína. Los nutrimentos que presentan mayor déficit de disponibilidad en el estrato económico con menores ingresos son calcio y retinol (Tabla 3). Debido a un consumo escaso de lácteos, 43.8% del total de grupos domésticos reporta una disponibilidad para el consumo insuficiente de calcio: en las familias más pobres ($n=89$), más de la mitad (52.8%) disponen de menos del 80% de sus requerimientos, mientras que en los grupos domésticos de mayores ingresos este déficit se presenta en un 29.6% ($p=0.003$). El 73.4% de la población dispone de menos del 80% de los requerimientos de retinol, con una diferencia significativa ($p=0.03$) entre ambos estratos económicos.

El hierro es un mineral disponible para el consumo en forma excesiva en ambos estratos de ingreso. El 81.1% del total de personas pueden consumir más del 120% de sus requerimientos. El consumo de verduras de hojas verdes con alta frecuencia a la semana y en cantidad suficiente hacen que el consumo de este mineral sea más que suficiente (Tabla 3) aun cuando no sea la fuente que garantice la mejor biodisponibilidad.

Cantidad de energía disponible

La disponibilidad de energía en las familias, como un componente importante de la seguridad alimentaria en la población, evidenció que el 45.4% de ellas tienen una insuficiencia energética considerable; es decir, que cubren menos del 80% de sus requerimientos (Tabla 3). El consumo excesivo disponible de energía en el estrato de mayores ingresos se expresa en una disponibilidad promedio de 104.05% de los requerimientos calóricos, mientras que en el estrato más pobre, se identifica una disponibilidad promedio de energía de 83.2% de los requerimientos. Estas diferencias fueron significativas al aplicar la prueba estadística U de M. Whitney=1678; $Z=3.01$; $p=0.002$.

Estos datos demuestran la importancia del ingreso en la disponibilidad general de energía por familia, especialmente en casos como el analizado donde 62.3% de las familias se encuentran en la categoría de *muy pobres*.

Respecto al tiempo de migración y la disponibilidad para consumo total de energía, no presenta una relación significativa ($p=0.76$) entre los 27 grupos domésticos que migraron a la ciudad hace menos de 5 años y los 116 que tienen 5 o más

años viviendo en la ciudad. En los inmigrantes recientes (menos de 5 años), el 51.8% cubre menos del 80% de sus requerimientos calóricos, respecto al 44.0% de los inmigrantes con mayor tiempo de residencia en la ciudad (Tabla 4). Esta diferencia no significativa se observa al contrastar, utilizando la prueba estadística U de Mann Whitney, la disponibilidad promedio de energía en el grupo de inmigración reciente (91.1%) y el de mayor tiempo de inmigración (91.3%) ($p=0.76$).

Los datos anteriores indican que un mayor tiempo de residencia en la ciudad no mejora en forma significativa las condiciones de disponibilidad energética de la población (Tabla 5).

TABLA 3

Distribución porcentual de la adecuación nutricional por categoría de ingresos de los grupos domésticos. Colonias urbanas marginales de San Cristóbal de Las Casas, 2005

Adecuación de energía y nutrimentos (%)	Muy pobres (n= 89) %	Pobres (n=54) %	Total (n=143) Valor de p	(Chi cuadrada Pearson)
Energía				
<60%	28	13	22.3	
60 y 80%	27	16.6	23.1	0.021*
80 a 120%	30.3	40.7	34.3	
120% y más	14.6	29.6	20.3	
Proteínas				
<60%	3.4	0.0	2.1	
60 y 80%	9.6	7.4	6.3	0.12
80 a 120%	32.6	18.5	27.3	
120% y más	58.4	74.1	64.3	
Hierro				
<60%	2.2	1.8	2.1	
60 y 80%	2.2	1.8	2.1	0.53
80 a 120%	18.0	9.3	14.7	
120% y más	77.5	87.0	81.1	
Calcio				
<60%	31.6	11.1	23.8	
60 y 80%	21.3	18.5	20.2	0.003*
80 a 120%	25.7	22.2	24.4	
120% y más	21.3	48.1	31.6	
Retinol				
<60%	61.8	38.9	53.1	
60 y 80%	19.1	22.3	20.3	0.03*
80 a 120%	11.2	20.3	14.7	
120% y más	7.9	18.5	11.9	
Vitamina C				
<60%	7.8	0.0	4.9	
60 y 80%	5.6	9.3	7	0.12
80 a 120%	15.7	11.1	14	
120% y más	70.8	79.6	74.1	

*Valor de $p < 0.05$

Valores del consumo recomendado de nutrientes (14-18)

TABLA 4
Adecuación de disponibilidad de ingesta energética por categoría de tiempo de migración. Colonias urbanas marginales de San Cristóbal de Las Casas, 2005

Adecuación del consumo de energía (%)	Menos de 5 años (n= 27) %	5 o más años de migración (n=116) %	Total (n=143)	Valor de p
Energía				
< 60% (insuficiente)	29.6	20.7	22.4	0.789*
60 a 80% (insuficiencia leve)	22.2	23.3	23.1	
80 a 120% (ideal)	29.6	35.3	34.3	
120% y más (exceso)	18.5	20.7	20.3	

TABLA 5
Modelo de regresión lineal general para explicar la disponibilidad de ingesta energía (seguridad alimentaria). Colonias urbanas marginales de San Cristóbal de Las Casas, 2005

Variable	Coefficiente	Error estándar	T	P
Constante	78.7	7.48	10.53	0.000
Tiempo de migración a la ciudad	-0.355	0.496	- 0.714	0.476
Promedio familiar del ingreso per cápita mensual	0.25	0.006	4.227	0.000

F=9.06 (2, 140); p=0.000.

Al analizar la interacción entre las variables: ingresos y tiempo de migración, para explicar la energía disponible en los hogares, se observó que los ingresos se mantienen como variable explicativa, mientras que el tiempo de migración no modifica el valor predictivo del consumo energético (Tabla 5).

DISCUSION

Los hallazgos de este estudio evidencian la vulnerabilidad de la población indígena migrante a la ciudad en términos de ingesta calórica, elemento fundamental de la seguridad alimentaria, debido a un acceso limitado a los alimentos por los escasos e inconstantes ingresos provenientes principalmente del empleo informal, y a que la producción doméstica de alimentos es practicada por pocas familias con producción precaria e irregular, lo que documenta la existencia de inseguridad en la alimentación.

En este contexto, aun cuando hay disponibilidad en el mercado, existen problemas de acceso ya que la totalidad de los alimentos se obtienen por compra. Tal como lo considera la FAO en su Programa Especial de Seguridad Alimentaria, el problema de acceso a una alimentación que permita el consumo

de energía suficiente es el componente principal de la inseguridad alimentaria en México. En este caso, la disponibilidad insuficiente de energía y nutrientes esenciales en los hogares, obedece fundamentalmente a problemas de acceso económico.

Los miembros de 24 de las 143 familias, viven con menos de 10.70 pesos per cápita al día, lo que equivale a un dólar, cifra menor a la que denomina el Banco Mundial como la línea de pobreza: 2 dólares (22). En promedio, las familias que colaboraron en el estudio destinan 80.5% de sus ingresos totales mensuales a la alimentación, cifra similar a la que reporta la FAO. En estos hogares, la producción insuficiente o nula de alimentos en traspatio y el no contar con parcelas para sembrar son otros elementos negativos para la seguridad alimentaria. En Cuba por ejemplo existe la experiencia exitosa de la producción agrícola en zonas urbanas de La Habana, como un apoyo fundamental para mantener la seguridad alimentaria de los hogares en contextos de pobreza (23).

El consumo de energía per cápita es una variable nutricional considerada para reconocer la inseguridad alimentaria (24,25). La adecuación de la ingesta por individuo de acuerdo a edad y sexo con base en la disponibilidad de energía per cápita estimada en esta población muestra una diferencia por estrato económico. Los datos de vulnerabilidad nutricional son evidentes al relacionar el ingreso económico y la disponibilidad de energía para esta población, especialmente en el grupo de *muy pobres* que corresponden a más del 60% de la misma. Esta situación es alarmante si se considera que la ciudad ha incrementado cinco veces su población en las últimas décadas y para el año 2000 se reportó que el 31% de su población es indígena y se asienta principalmente en las colonias urbanas marginales (8).

Adicionalmente, se observó una deficiencia importante en el consumo de calcio y retinol en casi toda la población, debido a la poca disponibilidad de lácteos en los hogares. Las frutas y verduras, son menos frecuentes en los hogares con menores ingresos, lo que marcó una diferencia significativa respecto a los hogares con mayores ingresos, no obstante la amplia disponibilidad de estos alimentos en el mercado a bajo precio. La tortilla, el frijol, pozol y chile, siguen siendo la base de la dieta de la población indígena cuando migra a la ciudad. Según los testimonios recogidos en este estudio mediante las entrevistas en profundidad, no existe la percepción de un cambio considerable en la alimentación a partir de la inmigración, lo que cambia es la forma de obtener los alimentos.

La condición de pobreza tanto en el campo como en la ciudad solo permite consumir una dieta monótona a partir de una mínima producción para el autoabasto o la compra de alimentos con los bajos ingresos. Lo anterior coincide con lo señalado por Passim Vennett (26,27) en el sentido de que la tendencia es sustituir los alimentos periféricos con más rapidez

que los alimentos básicos o centrales, como se demuestra al comparar el consumo de granos y cereales entre los subgrupos comparados en este estudio. Ahora bien, aunque en conjunto la población tiene una disponibilidad adecuada de proteína, el origen de ésta varía según el estrato económico. El huevo y el frijol son la fuente principal para el grupo de familias más pobres, mientras que en el grupo con mejores ingresos, consumen más carnes. Los productos industrializados mantienen un consumo similar en ambos grupos económicos, lo que demuestra que independientemente del tiempo que se lleve viviendo en la ciudad y aún cuando los ingresos económicos sean escasos, las personas incluyen en su dieta alimentos como el refresco, frituras y pastelillos, lo que sugiere un patrón de consumo y una generalización del estilo de vida occidental (2), lo que contribuye a incrementar la inseguridad alimentaria debido a sus altos costos y a su escaso valor nutricional (28).

Un hecho importante es que la población indígena migrante no mejora su condición económica ni su alimentación al transcurrir el tiempo desde su llegada a la ciudad, pese a que la migración es motivada por el deseo de mejorar sus condiciones de vida.

CONCLUSIONES

La inseguridad alimentaria de la población indígena migrante a la ciudad, está determinada en gran medida por un ingreso económico insuficiente y una elección inadecuada de alimentos en el mercado. Un mayor ingreso significa una dieta más variada y de mejor calidad tal como se ha documentado en este estudio, sobre todo al aumentar el consumo de frutas y verduras así como productos de origen animal. Sin embargo, los alimentos industrializados son consumidos de manera similar por los grupos pobres y muy pobres, lo que sugiere que el ingreso no determina el consumo de este tipo de alimentos. Por otra parte, el consumo de alimentos industrializados afecta en mayor medida a la población más pobre si se considera que la inversión en este tipo de productos poco nutritivos disminuye aún más la posibilidad de tener una dieta más variada y de mejor calidad.

La educación nutricional es un nivel de intervención importante para mejorar la condición de seguridad alimentaria y nutricional mediante una mejor selección de alimentos por estas familias, aunado a programas para optimizar espacios para producir alimentos y la creación de empleos formales con ingresos adecuados para esta población que inevitablemente seguirá llegando y estableciéndose en las ciudades.

REFERENCIAS

1. Garine, IV. Introducción a las investigaciones antropológicas sobre alimentación. *Revista Cuadernos de Nutrición*. 1997; (3): 21-28.
2. Laimez, P, Navarro M. Conocimientos, opiniones y actitudes de la población de las islas Canarias en relación a la nutrición. *Arch Latinoamer Nutr*. 2000; (50): 55-61.
3. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Declaración de Roma sobre la seguridad alimentaria mundial y plan de acción de la cumbre mundial sobre la alimentación. Roma, 1996: 1-10.
4. Zarzalejo Z, García M. Hábitos alimentarios en niños desnutridos menores de 2 años en una comunidad urbano marginal. *An Venez Nutr*. 2001; (24): 40-47.
5. Araya B, Atalabs E. Factores que determinan la selección de alimentos en familias de sectores populares. *Revista Chilena de Nutrición*. 2002; (29): 13-21.
6. Crovetto, M. Cambios en la estructura alimentaria y consumo aparente de nutrientes de los hogares del gran Santiago 1988-1997. *Revista Chilena de Nutrición* 2002; (52): 70 -75.
7. Eide A, Oshang W. Food security and the right to food in international law and development. University of Oslo. 1991; 1(2): 416-467 INEGI. XII Censo General de Población y Vivienda 2000. México, 2001.
8. Fernández, SP. De lo rural a lo urbano: Grupos domésticos, trabajo y vivienda en un asentamiento indígena urbano marginal en San Cristóbal de las Casas, Chiapas, México. *Tesis de Maestría*, El Colegio de la Frontera Sur, San Cristóbal de Las Casas, Chiapas, México. 2003.
9. Calvo, A. Las colonias nuevas de migrantes y expulsados en San Cristóbal de las Casas. *Anuario del Instituto del Centro de Estudios indígenas*. Universidad Autónoma de Chiapas, México. Primera edición. 1990: 55-66.
10. Angulo J. Población y Migraciones campesino-indígenas de los Altos de Chiapas. *Anuario del Instituto de Estudios Indígenas*. Universidad Autónoma de Chiapas, México, 1993.
11. Angulo J. Algunas consideraciones sobre cultura, economía y migración en los Altos de Chiapas. *Anuario del Instituto de Estudios Indígenas*. Universidad Autónoma de Chiapas, México, 1996.
12. Pérez I. Expulsiones indígenas. Religión y migración en tres municipios de los Altos de Chiapas: Chenalhó, Larrainzar y Chamula. México. Universidad Autónoma de Chiapas, Facultad de Ciencias Sociales, México, 1998.
13. Bigmore P, Perezgrovas R. Vida cotidiana en las colonias indígenas en la Zona peri-urbana de San Cristóbal de Las Casas. *Anuario de Estudios indígenas*. Instituto de Estudios Indígenas. Universidad Autónoma de Chiapas, México, 2003.
14. National Research Council. Recommended Dietary Allowances. 10th. Ed. National Academy of Science. Washington D.C. 1989.
15. IOM (Institute of Medicine) Dietary reference intake for, Calcium, Phosphorus, Magnesium, Vitamin D and Fluoride. Food and Nutrition Board. Washington D.C. National Academy Press. 1997.
16. IOM (Institute of Medicine) Dietary reference intake for Thiamin, Riboflavin, Niacin, Vitamin B6 Folate, Vitamin B12, Pan-

- tothenic Acid, Biotin and Choline. Food and Nutrition Board. Washington D.C. National Academy Press. 1998.
17. IOM (Institute of Medicine) Dietary reference intake for vitamin C, Vitamin E, Selenium and Carotenoids. Food and Nutrition Board. Washington D.C. National Academy Press. 1998.
 18. IOM (Institute of Medicine) Dietary reference intake for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, And Zinc. Food and Nutrition Board. Washington D.C. National Academy Press. 1998.
 19. Zar. J.H. Biostatistical Analysis. Prentice-Hall. Second edition. 1984. p. 71-96.
 20. Agresti, A. Describing Two-way contingency tables. Categorical data Analysis. John Wiley & Sons. Second edition, 1990.
 21. Montgomery, Douglas C. Diseños y Análisis de experimentos. México: Iberoamericana. 1999.
 22. INEGI-CEPAL. Magnitud y evolución de la pobreza en México 1984-1992. México, 1993.
 23. Chaplowe, SG. Havana's popular gardens: Sustainable prospects for urban agriculture. *The Environmentalist*, 1998; (18): 47-57.
 24. Mercado C, Lorenzana P. Acceso y Disponibilidad Alimentaria Familiar. Validación de instrumentos para su medición. Venezuela:Fundación Polar, 2000.
 25. Dehollain, P. Conceptos y factores condicionantes de la seguridad alimentaria en hogares. *Arch Latinoamer Nutr.* 1995; (45):338-340.
 26. Passim, H, Bennett, JW. Social process and dietary change. National Research Council, Bulletin 108, USA 1943. (Citado por Bourges 1990)
 27. Bourges, R. Costumbres, prácticas y hábitos alimentarios. *Revista Cuadernos de Nutrición.* 1990; (13):18-.
 28. López, J. Cultura y Alimentación. *Revista Cuadernos de Nutrición.* 2003; (26): 60.

Recibido:15-02-2007

Aceptado:07-05-2007

A short training program improves the accuracy of portion-size estimates in future dietitians

Marta Arroyo, Concepción Martínez de la Pera, Laura Ansotegui, Ana M^a Rocandio

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 determine whether a short training program, using real foods, would decrease their portion-size estimation errors after training. 90 student volunteers (20.18±0.44 y old) of the University of the Basque Country (Spain) were trained in observational techniques and tested in food-weight estimation during and after a 3-hour training period. The program included 57 commonly consumed foods that represent a variety of forms (125 different shapes). Estimates of food weight were compared with actual weights. Effectiveness of training was determined by examining change in the absolute percentage error for all observers and over all foods over time. Data were analyzed using SPSS vs. 13.0. The portion-size errors decreased after training for most of the foods. Additionally, the accuracy of their estimates clearly varies by food group and forms. Amorphous was the food type estimated least accurately both before and after training. Our findings suggest that future dietitians can be trained to estimate quantities by direct observation across a wide range of foods. However this training may have been too brief for participants to fully assimilate the application. **Key words:** portion size; accuracy; training program; future dietitians.

RESUMEN. Un programa de entrenamiento breve mejora la precisión en la estimación de raciones en futuros dietistas. El objetivo del presente estudio fue determinar si un programa de entrenamiento breve, con alimentos reales, podría reducir el error en la estimación de raciones tras el entrenamiento. 90 estudiantes voluntarios (20,18±0,44 años) de la Universidad del País Vasco (España) recibieron un entrenamiento en técnicas observacionales, y se valoró su capacidad para estimar el peso de alimentos durante y después de un periodo de tres horas de entrenamiento. Dicho programa incluyó 57 alimentos de consumo habitual que representan una amplia variedad de formas (125 formas diferentes). Los pesos estimados se compararon con los pesos reales y la efectividad del programa se determinó examinando los cambios en el porcentaje de error absoluto a lo largo del tiempo. Los datos se analizaron con el programa SPSS vs. 13.0. Los errores en la estimación de raciones disminuyeron tras el entrenamiento para la mayoría de los alimentos. Además, la precisión en la estimación varió ampliamente según el grupo de alimentos y las formas. Los alimentos que se estimaron con menor precisión fueron los amorfos, tanto antes como después del entrenamiento. Nuestros resultados sugieren que el programa de entrenamiento implementado para la estimación de raciones en un amplio rango de alimentos por observación directa resulta eficaz en futuros dietistas. Sin embargo, este entrenamiento pudo ser demasiado breve para que los participantes asimilaran su aplicación. **Palabras clave:** Raciones de alimentos, precisión, programa de entrenamiento, futuros dietistas.

INTRODUCTION

Current methods of assessing dietary intake appear to be ineffective, and have resulted in inaccurate reports of intake. One potential source of error in dietary intake studies is portion-size estimation (1-3). Many investigators have recommended training people in portion-size estimation techniques to improve their ability to make accurate estimations (4-6).

Research related to portion-size estimation spans several broad areas: factors that affect portion-size estimation (7), types of measurement aids used (2,8-10), the validation of portion-size estimation when using aids (11-15), and determination of average or standard portion sizes for use when portion-size information cannot be obtained any other way (1).

Although several studies support the concept that training in portion-size estimation improves the accuracy of dietary reporting in adults (1,16,17), few studies have been conducted to evaluate the efficacy of such training in university students of Human Nutrition and Dietetic. Dietitians frequently find a barrier to control the amount of food consumed by patients, and they play a decisive role in the accurate estimation of the portion size when they use methods to obtain dietary intake data, such as the direct observation of eating, the food record, the food frequency questionnaires, and the dietary recalls. Most of these methods rely on the individual's ability to keep accurate records or recall food consumed and on the interviewer's ability.

Dietitians can work as clinical professional who have duties for planning, education, supervision and evaluation of a clinically devised eating plan to restore the patient to func-

tional nutritional health (18). Moreover dietitians can research about nutrition and health-interactive issues. And in many cases the foods records were reviewed to ensure accuracy and completeness (i.e., portion sizes provided) by a dietitian. It is, therefore, essential that the program in nutrition and dietetic include formation and training on nutritional assessment and inside of this area on portion-size estimation.

Based on the assumption that training in portion-size estimation could reduce estimation error, we developed and tested a practical portion size measurement program in a group of future dietitians. Unlike previous reports on this subject (2,12,19), this study includes a big number of foods and shapes. We sought to determine whether a short training program by direct observation, using real foods, would decrease portion-size estimation error.

METHODS

Sample

Participants consisted of 90 subjects (83 female and 7 male) student volunteers who were recruited through the university. All participants had prior training in nutrition (second academic year) though none of the subjects had experience in the estimation of portion sizes and none of them had received any training on estimation of food portion sizes. The mean (SD) age of the students was 20.18 (0.44) years (range 20-22). All students were classified as normal-weight according to their BMI (20) and their socio-economic status level was medium (21). Participants gave their written informed consent. The University Ethical Committee on Human Research approved the experimental protocol.

Foods

57 foods were selected using several criteria: they are commonly consumed foods (22-24) and they represent a variety of forms: solid (items that have a geometric shape) (n=43), amorphous (n=12), and liquid (n=2). Amorphous foods are those that do not have a specified shape, rather they mound or assume the shape of the container, such as tossed salad, sliced fruit and rice (7). Foods selected were sorted into seven groups: grains (7 foods and 22 different shapes), vegetables (9 foods and 18 different shapes), fruits (4 foods and 8 different shapes), proteins (21 foods and 42 different shapes), fats and oils (4 foods and 10 different shapes), dairy (3 foods and 8 different shapes) and "another" (9 foods and 17 different shapes). "Another" group included: sweets, salt, meat extract and instant coffee. Each student assessed the 57 foods selected previously.

The measurements chosen were common standard portion sizes, such as cup, glass, dish, slice, etc. And the containers chosen were commonly available in convenience stores and local restaurants. We included portion size for the main course and for the accompaniment.

Procedure

Individual practice estimation sessions were conducted during the training period. To reduce any potential for bias, participants were not told specific information about the true purpose of the study before the interview.

Activities to improve observers' food-estimation skills included 4 steps (Figure 1). The step 1-3 carried out for three consecutive hours. During the training program the portion sizes and shapes of each food varied. By varying these factors, it was possible to explore whether this training promote accurate estimates foods in their various forms.

FIGURE 1
Four-step portion-size estimation and measurement training program

Step 1: No visual estimation method (without to see foods)

- Introduce standard units of measurement.
- Practice estimating foods.

Step 2: Direct visual estimation method (with real foods)

- Practice estimating food quantities:
- View the quantity on the plate or in a clear container.
- Touch and handle the foods.

Step 3: Weighed estimation method

- Verify the estimated quantity by using the scales.

Step 4: Short-term memory

- Assess the ability to estimate portion-sizes a week after.
-

First, the respondent was asked to report the weight of different foods that is considered a portion size (step 1). The first step involved applying a no visual estimation method (without to see foods) and consisted of a half-hour group session. The aims of this step were to introduce standard units of measurement and to practice estimating foods.

Second, the respondents were permitted to examine and handle the real foods and they were asked to estimate each food weight (step 2). The foods were arranged on a table in the sequence in which participants were to estimate their amounts. Actual food weight was provided after each estimate to allow each observer to evaluate his food specific estimation skills. The second step involved applying a direct visual estimation method and consisted of a one and half hours group session. The aim of the second step was to continue to practice estimating food quantities.

The step 3 consisted of a 1-hours group session in which subjects practiced measuring various foods with the quantity that they considered household measures. Next, participants established the weight using scales (Soehnle Ref. 8025; max 2 kg; 0-1000 g = 1g, 1000-2000 = 2 g). The third step in-

involved applying a weighed estimation method and the aim was to verify the estimated quantity.

Finally, the subjects were asked to estimate portion sizes of the different preweighed food quantities up to 1 week after training (step 4). In the last step no handling of food was permitted. The aim of the fourth step was to assess the ability to estimate portion-sizes a week after (short-term memory).

This study employed three questionnaires that were filled out in the step 1 (no visual), 2 (direct visual) and 4 (1 week after). The sequence of the foods listed on the questionnaires varied according to the sequence in which the foods were to be estimated. Before each step the participants had been trained in the method to fill out the questionnaires.

Statistical analyses

The equation for calculating percentage estimation error was $[(\text{estimated portion} - \text{measured portion}) \div \text{measured portion}] \times 100$ (0% error would be a “perfect” score) (25). Effectiveness of training was determined by examining change in the absolute percentage error for all observers and over all foods over time.

Using two methods, the difference method (D) and the absolute value method (AV) performed this calculation. The D method distinguishes between overestimation and underestimation (positive and negative scores, respectively), allowing for evaluation of the mean direction of error for the total test and for each food variable. The AV method ignores positive and negative signs, thus providing the absolute value of the percentage error of estimation. Larger errors are expected with use of the AV method because errors are additive.

Outliers, defined as respondents whose percentage recall error was more than 3 standard deviations outside of the overall mean for a particular food, were not included in analyses for mean percentage estimation error for that food. Eliminating outliers was important because large deviations in a single respondent’s data (for example, a respondent who overestimated the portion size of green beans by more than 1,000%) would have had a major impact on the mean misestimation for that food.

Data were analyzed using SPSS vs. 13.0. (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) and reported as median \pm Standard Deviation (S.D.). For each food group (grains, vegetables, fruits, proteins, fats and oils, dairy and “another”) and food type (solid, amorphous and liquid), the difference between percentage estimation errors was analyzed by using Student’s *t* test and the Mann-Whitney U test. Alpha level for all of these analyses was set at $P < 0.05$ (two-tail test).

RESULTS AND DISCUSSION

The mean percentage errors between weighed foods and estimates calculated by the D method according to the food

group were shown in Table 1. A comparison of the scores by the D method revealed that there were no significant differences between the different steps for either food group, except for the grains, fruits and protein groups. Error in estimates of proteins (meat, poultry, fish, beans and eggs) for the D method decreased between step 1 and 2, but estimated weights for this food group showed increase in error over time. In general, dairy, vegetables and fruits were accurately determined before, during and after training, by a small margin.

TABLE 1
Median percentage errors between weighed foods and estimates by food groups (difference method)

Food group (n)	Percentage error (median \pm SD)		
	No visual	Direct visual	1 week after
Overall (57)	21.04 \pm 23.30	25.77 \pm 23.48	23.70 \pm 11.90
Grains (7)	31.87 \pm 48.51*	11.65 \pm 41.40	26.73 \pm 31.04
Vegetables (9)	-14.26 \pm 36.42	-17.10 \pm 37.48	-8.33 \pm 22.91
Fruits (4)	-7.15 \pm 29.45*	-17.36 \pm 26.69‡	1.48 \pm 22.55
Proteins (21)	34.80 \pm 27.87‡	9.20 \pm 22.41	24.20 \pm 38.54
Fats, oils (4)	25.51 \pm 51.74	35.67 \pm 48.61	25.92 \pm 42.09
Dairy (3)	-2.24 \pm 35.74	3.65 \pm 32.71	-1.93 \pm 32.31
Another (9)	54.32 \pm 55.97	42.53 \pm 45.61	35.16 \pm 45.28

Notes. “Overall” refers to all food types. Grains, bread, cereal, rice and pasta; Dairy, milk, yogurt and cheese; Proteins, meat, poultry, fish, beans and eggs; “Another”, sweets, salt, meat extract and instant coffee. *, ‡ and †, step comparison (No visual-Direct visual, Direct visual-1 week after, No visual-1 week after) was significant different, * $P < 0.05$, ‡ $P < 0.01$, † $P < 0.001$

The differences between the portion-size errors were significant for the AV method, for most of the food groups (Table 2). A comparison of these errors revealed that the training program did significantly improve estimation accuracy between step 1 and 4 for all food types, except for the fats and oils, and dairy. Our results concur with others that even short-term exposure to practical portion size measurement program may improve estimation accuracy of food weight (12,26).

Using the AV method of calculating percentage estimation error provides information regarding total error because error are additive. Since percentage estimation error was generally greater by the AV method than by the D method, we found that overall improvement in estimation accuracy was affected by the calculation method.

Additionally, the accuracy of their estimates varied by food group. Gittelsohn et al. (27) have reported a similar trend. In our case, due issue of concern is that observer estimates are relatively less accurate for “another”, fats and oils and proteins. These data should be considered when designing future programs to improve the accuracy of portion size estimates.

TABLE 2
Median percentage errors between weighed foods
and estimates by food groups (absolute value method)

Food group (n)	Percentage error (median±SD)		
	No visual	Direct visual	1 week after
Overall (57)	66.40±12.81	64.28±10.80‡	53.37±10.15*
Grains (7)	58.99±43.22	46.57±29.94	48.60±21.55*
Vegetables (9)	59.49±21.44	49.18±29.15	45.76±21.17‡
Fruits (4)	28.53±15.77	27.19±16.02	23.74±11.46*
Proteins (21)	70.50±19.12‡	46.68±9.63‡	53.49±28.92‡
Fats, oils (4)	67.24±37.86	63.51±31.03	51.26±29.55
Dairy (3)	48.10±25.26	47.13±25.89	31.82±23.39
Another (9)	89.98±36.27	74.18±32.63	62.38±37.28‡

Notes. "Overall" refers to all food types. Grains, bread, cereal, rice and pasta; Dairy, milk, yogurt and cheese; Proteins, meat, poultry, fish, beans and eggs; "Another", sweets, salt, meat extract and instant coffee. *, ‡ and †, step comparison (No visual-Direct visual, Direct visual-1 week after, No visual-1 week after) was significant different, *P<0.05, ‡P<0.01, †P<0.001

We also found that accuracy of estimation varied by food form after training (Table 3): liquids were estimated the most accurately (median error = 14.18%); followed by solids (median error = 14.51%); and finally, amorphous foods (median error = 33.96%) (D method). Amorphous was the food type estimated least accurately both before and after training, which is consistent with reports of portion-size estimation ability in other studies (28-31).

We recognize some critical limitations of this study such as the sample size, the lack of a control condition, and the length of the training program. To improve the accuracy of estimates, additional time should be spent on estimating several foods (amorphous foods, fats and oils, proteins and "another"). Periodic retesting, both during the training and study periods, is recommended to maintain high levels of accuracy for all observers. This training may have been too brief for participants to fully assimilate the application. The translation of cognitive capacity for estimation and measurement skills into accurate food estimation ability is likely to require more than one training session, particularly to produce longer-term result (32).

TABLE 3
Median percentage errors between weighed foods and estimates by food types

Food type (n)	No visual		Direct visual		1 week after	
	D	AV	D	AV	D	AV
Solid (43)	27.75±23.32‡	63.99±13.48	8.09±18.36	51.31±9.53	14.51±22.11	50.04±17.40‡
Amorphous (12)	30.41±50.11	70.46±40.80	35.45±41.22	63.92±24.61	33.96±27.49	60.53±21.48‡
Liquid (2)	10.25±32.44	45.53± 20.60	12.76±49.38	41.23±35.59	14.18±23.20	31.99±15.34‡

Notes "Liquid" refers to milk and oil; D, difference method; AV, absolute value method. *, ‡ and †, step comparison (No visual-Direct visual, Direct visual-1 week after, No visual-1 week after) was significant different.

Since most of the studies related to the portion size estimation training did not use in university students of Human Nutrition and Dietetic, it is not easy to compare with our results. However, we would like to point out that our training program comprise a wide list of foods and different sizes and shapes, what allow to explore whether this training promote accurate estimates foods in their various forms.

This study also shows that precision in portion size estimation is not yet a realistic expectation. The critical questions that remain are: What level of accuracy is realistic and acceptable? What type of training in portion size estimation is necessary to reach this acceptable level?.

Part of the difficulty in establishing an acceptable level of accuracy is the lack of consensus on the expression of error rates. Moreover, acceptable levels of accuracy may differ depending on the use of promotion estimates, i.e., for

nutritional monitoring of populations, or for individual nutrition intervention in health promotion, disease prevention and disease management (33).

In summary, our findings suggest that future dietitians can be trained to estimate quantities by direct observation across a wide range of foods. Additionally our results will assist in the development of more effective training programs for the portion-size estimation, which is likely to reduce respondent errors and promote the collection of accurate data.

REFERENCES

1. Scagliusi FB, Polacow VO, Artioli GG, Benatti FB, Lancha AH Jr. Selective underreporting of energy intake in women: magnitude, determinants, and effect of training. *J Am Diet Assoc.* 2003;103:1306-13.

2. Godwin SL, Chambers E, Cleveland L. Accuracy of reporting dietary intake using various portion-size aids in-person and via telephone. *J Am Diet Assoc.* 2004;104:585-94.
3. Volker DH, Leary C, Gill TP. Portion size of campus takeaway foods and serving size estimates of common foods. *Asia Pac J Clin Nutr.* 2003;12(Suppl):25S.
4. Barrett-Connor E. Nutrition epidemiology: how do we know what they ate? *Am J Clin Nutr.* 1991;54(Suppl):182S-187S.
5. Schwartz J, Byrd-Bredbenner C. The effect of practical portion size measurement aids on the accuracy of portion size estimates made by young adults. *J Hum Nutr Diet.* 2004;17(4):351-357.
6. Faggiano F, Vineis P, Cravanzola D, Pisani P, Xompero G, Riboli E, Kaaks R. Validation of a method for the estimation of food portion size. *Epidemiology* 1991;3:379-382.
7. Chambers E IV, Godwin SL, Vecchio F. Cognitive strategies for reporting portion sizes using dietary recall procedures. *J Am Diet Assoc.* 2000;100:891-897.
8. Godwin S, McGuire B, Chambers E IV, McDowell M, Cleveland L, Edwards E, Ingwersen L. Evaluation of portion size estimation aids used for meat in 24-hour dietary recalls. *Nutr Res.* 2001;21:1217-1233.
9. Lillegaard IT, Overby NC, Andersen LF. Can children and adolescents use photographs of food to estimate portion sizes? *Eur J Clin Nutr.* 2005;59:611-7.
10. Williamson DA, Allen HR, Martin PD, Alfonso A, Gerald B, Hunt A. Digital photography: a new method for estimating food intake in cafeteria settings. *Eat Weight Disord.* 2004;9:24-8.
11. McGuire B, Chambers E IV, Godwin S, Brenner S. Size categories most effective for estimating portion sizes of muffins. *J Am Diet Assoc.* 2001;101:472-474.
12. Byrd-Bredbenner C, Schwartz J. The effect of practical portion size measurement aids on the accuracy of portion size estimates made by young adults. *J Hum Nutr Diet.* 2004;17:351-7.
13. Matheson DM, Hanson KA, McDonald TE, Robinson TN. Validity of children's food portion estimates: a comparison of 2 measurement aids. *Arch Pediatr Adolesc Med.* 2002;156:867-71.
14. Slimani N, Valsta L. EFCOSUM Group. Perspectives of using the EPIC-SOFT programme in the context of pan-European nutritional monitoring surveys: methodological and practical implications. *Eur J Clin Nutr.* 2002;56 (Suppl2):63S-74S.
15. Steyn NP, Senekal M, Norris SA, Whati L, Mackeown JM, Nel JH. How well do adolescents determine portion sizes of foods and beverages? *Asia Pac J Clin Nutr.* 2006;15:35-42.
16. Weber JL, Lytle L, Gittelsohn J, Cunningham-Sabo L, Heller K, Anliker JA, Stevens J, Hurley J, Ring K. Validity of self-reported dietary intake at school meals by American Indian children: the Pathways Study. *J Am Diet Assoc.* 2004;104:746-52.
17. Ayala GX. An experimental evaluation of a group- versus computer-based intervention to improve food portion size estimation skills. *Health Educ Res.* 2006;21:133-45.
18. Cuervo M, Brehme U, Egli IM, Elmadfa I, Gronowska-Senger A, Tetens I, Martínez JA, Branca F. Nutrition, Dietetics and Food Sciences Degrees across Europe. *Ann Nutr Metab.* 2007;51:115-118.
19. Slawson DL, Eck LH. Intense practice enhances accuracy of portion size estimation of amorphous foods. *J Am Diet Assoc.* 1997;97:295-297.
20. WHO. Programme of Nutrition. Family and Reproductive Health. Obesity. Preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation on obesity. Ginebra, June 3-5th, 1997. Ginebra WHO, 1998.
21. Grupo de trabajo de la Sociedad Española de Epidemiología y de la Sociedad Española de Medicina de Familia y Comunitaria. Una propuesta de medida de la clase social. *Aten Primaria* 2000;25:350-63.
22. Servicio Central de Publicaciones del Gobierno Vasco. Encuesta de nutrición de la Comunidad Autónoma del País Vasco. Vitoria-Gasteiz, Spain; 1994.
23. Fregapane G, Asensio-García C. Dietary assessment of educated Spanish population using a self-administered meal-based food frequency questionnaire. *Eur J Epidemiol.* 2000;16:183-191.
24. Carbajal A, Sánchez Muniz FJ. Guía de Prácticas. In: Nutrición y Dietética. García-Arias MT, García-Fernández MC (eds.) Universidad de León, 2003;1-130.
25. Bolland JE, Yuhas JA, Bolland TW. Estimation of food portion sizes: effectiveness of training. *J Am Diet Assoc.* 1988;88:817-21.
26. Bolland JE, Ward JY, Bolland TW. Improved accuracy of estimating food quantities up to 4 weeks after training. *J Am Diet Assoc* 1990;90:1402-1404, 1407.
27. Gittelsohn J, Shankar AV, Pokhrel RP, West KP Jr. Accuracy of estimating food intake by observation. *J Am Diet Assoc.* 1994;94:1273-7.
28. Venter CS, MacIntyre UE, Vorster HH. The development and testing of a food portion photograph book for use in an African population. *J Hum Nutr Diet.* 2000;13:205-218.
29. Weber JL, Tinsley AM, Houtkooper LB, Lohman TG. Multi-method training increases portion size estimation accuracy by food type. *J Am Diet Assoc.* 1997;97:176-9.
30. Howat M, Mohan R, Champagne C, Monlezun C, Wozniak P, Bray G. Validity and reliability of reported dietary intake data. *J Am Diet Assoc.* 1994;94:169-73.
31. Ervin R, Smiciklas-Wright H. Accuracy in estimating and recalling portion sizes of foods among elderly adults. *Nutr Res.* 2001;703-713.
32. Weer JL, Cunningham-Sabo L, Skipper B, Lytle L, Stevens J, Gittelsohn J, Anliker J, Heller K, Pablo JL. Portion-size estimation training in second-and third-grade American Indian children. *Am J Clin Nutr.* 1999;69(4Suppl):782S-787S.
33. Hernández T, Wilder L, Kuehn D, Rubotzky K, Moser-Veillon P, Godwin S, Thompson C, Wang C. Portion size estimation and expectation of accuracy. *J Food Comp and Análisis* 2006;19:14S-21S.

Recibido: 02-02-2007

Aceptado:22-06-2007

Determinación de ocratoxina A en plasma humano y en café de Costa Rica por un método de ELISA

Eugenia María Quintana Guzmán, Florencia Antillón Guerrero, Jessica Azofeifa Chaves

Universidad de Costa Rica y Centro de Investigaciones en Enfermedades Tropicales (CIET), Centro de Investigación en Tecnología de Alimentos. Universidad de Costa Rica. San Pedro, San José, Costa Rica

RESUMEN. Costa Rica no es la excepción en cuanto a la prevalencia de ocratoxina A en plasma, ya que en este estudio se obtuvo la presencia de la micotoxina en el 95% de las 149 muestras estudiadas. También se estudió la presencia de la ocratoxina A en 110 muestras de diferentes marcas de café tostado y molido de las 12 torrefactoras más importantes del país y de 7 supermercados. A excepción de una muestra de café que dio resultados negativos, el resto de muestras analizadas presentaron la micotoxina en cantidades menores a 4000 ng/L o kg. Se trató de encontrar una asociación entre el consumo de café y la presencia de la ocratoxina A en el plasma así como del consumo de cerveza, sin embargo no hubo diferencia estadísticamente significativa en el valor promedio de la micotoxina entre los tomadores y no tomadores de café y tampoco entre los bebedores y no bebedores de cerveza.

Palabras clave: Ocratoxina A, ELISA, micotoxina, plasma, café molido y tostado.

SUMMARY. Ochratoxin A in human plasma and coffee from Costa Rica by ELISA. Costa Rica is not an exception in the prevalence of ochratoxin A in human plasma, in this research the presence of the micotoxin was found in 95% of the 149 samples studied. The presence of ochratoxina A also was studied in 110 samples of toasted and grounded coffee from the most important 12 coffee factories of the country and from 7 supermarkets. With the exception of one negative sample the rest of them have concentrations of micotoxin below 4000 ng/kg. An association between the coffee consumption and the presence of ochratoxin A in plasma was attempted to be found as well as in the consumption of beer, but there were any statistically significant difference in the average level of mycotoxin between the coffee consumers and non coffee consumers neither between beer consumers and no beer consumers. **Key words:** Ochratoxina A, ELISA, micotoxin, plasma, toasted and grounded coffee.

INTRODUCCION

Las micotoxinas son compuestos químicos de bajo peso molecular, producidos por mohos, que tienen efectos patológicos tanto en humanos como en animales. Entre las micotoxinas de mayor impacto en Salud Pública se puede mencionar ocratoxina A (OTA)(1) la cual no pierde su toxicidad por tratamiento térmico ni por acción de las enzimas del tracto digestivo por lo que es una seria amenaza para la salud (2, 3).

Los hongos productores de micotoxinas por lo general pertenecen a los géneros *Fusarium*, *Aspergillus* y *Penicillium*. La OTA es una micotoxina que es producida por varias especies de *Aspergillus* y por *Penicillium verrucosum* (4), sin embargo fue aislada por primera vez en 1965 de un cultivo de *Aspergillus ochraceus* de donde deriva su nombre (5). La OTA puede encontrarse como contaminante natural en los cereales, especialmente en la cebada y arroz, subproductos de cereales, harinas y turto de maní y en una serie de alimentos como granos de café, legumbres, frutas, quesos, carnes ahumadas como jamón, tocino y embutidos, cerveza, especias, vino y frutos de la vid (6,7).

La OTA tiene una potente actividad inmunosupresora, nefrotóxica, carcinogénica, teratogénica, inmunotóxica y genotóxica (5,8, 9). En Escandinavia y Dinamarca se da la

nefropatía porcina micotóxica como enfermedad endémica, cuyo causante es la ocratoxina A (3). En Alemania se ha detectado OTA en un elevado porcentaje de muestras de sangre y riñón de cerdo y en menor proporción en cereales y leche materna. En humanos parece ser que la OTA puede ser responsable de ciertos síndromes renales, como la nefropatía endémica balcánica que se da en la población rural de Bulgaria, Rumanía y Repúblicas ex Yugoslavas (7) y la alta incidencia de tumores del sistema urinario en esta población. La OTA ha sido detectada en sangre del 6 al 18% de la población de los Balcanes habiéndose encontrado concentraciones de hasta 35 ng/kg (4) y en algunos estudios realizados fuera de la Península Balcánica se ha encontrado más del 50% de muestras positivas en sangre (10).

La OTA se encuentra en la sangre unida a la albúmina sérica (11) y en estado libre. En un estudio realizado en Yugoslavia, donde la nefropatía endémica es prevalente, se tamizaron 639 muestras de suero, encontrándose que el 6,6% de la población estudiada tenía la toxina (12). En Polonia el 7,2% de las 1065 muestras estudiadas contenían ocratoxina A (10). En Alemania el 56,6% de las muestras estudiadas resultaron positivas (13) y en Dinamarca el 47,9% también dieron positivo por esta toxina (10) al igual que en Bulgaria con un 14,4% (1).

Los datos sobre la sangre humana, cuando están debidamente validados, proporcionan la prueba definitiva de que ha habido exposición al contaminante y permiten cuantificar la exposición a nivel individual (14). Por lo tanto, con este estudio se propuso determinar la presencia de esta micotoxina en sangre humana y en café molido y tostado por un método de ELISA. A su vez se propuso conocer si había relación de la presencia de la ocratoxina A en sangre con la ingesta de la misma presente en el café, ya que el costarricense como buen productor de este grano también es un gran consumidor del mismo. Además, considerando que la cebada puede ser una fuente importante de contaminación con OTA y que en Costa Rica también se consumen grandes cantidades de cerveza, indirectamente se trató de relacionar su consumo con la presencia de la micotoxina en plasma.

METODOS

Muestra

Se obtuvo sangre total anticoagulada con EDTA con material nuevo estéril descartable de 94 adultos sanos bebedores de café costarricense y 55 adultos sanos no bebedores de café quienes firmaron el consentimiento informado aprobado por el Comité de Ética de la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad de Costa Rica. A dichas muestras de plasma se les realizó extracción de OTA y posteriormente mediante un método de ELISA se cuantificó la micotoxina en ng/L. Se aplicó el análisis estadístico utilizando la prueba de t de Student. A cada participante en el estudio se le preguntó que si consumía cerveza. Además, se muestrearon de manera aleatoria las diferentes marcas comerciales que se ofrecen en el mercado, se recolectaron tres muestras de café de las 12 torrefactoras más importantes del país y 7 de supermercados, con un total de 110 muestras, a las cuales se les realizó extracción de ocratoxina A y posteriormente mediante un método de ELISA se cuantificó la micotoxina en ng/kg.

Extracción plasmática

Se realizó la extracción de la OTA siguiendo la metodología para suero porcino descrita por Ridascreen® de la casa comercial R-Biopharm GmbH (15) adaptada a plasma humano. A 2 ml de plasma se le agregó 2,5 ml de HCl 1 N y 4 ml de diclorometano. Se agitó por 5 minutos y luego se centrifugó a 3500 g por 15 minutos. Se eliminó la capa superior y se filtró, se tomó 3,0 ml y se le agregó 3,0 ml de NaHCO_3 0.13 M pH 8.1 y se agitó por 5 minutos. Se centrifugó 5 minutos a 3500 g y se descartó la parte superior del sobrenadante. Se repitió el último paso. Se agregó 1,0 ml de HCl 1 N y 3,0 ml de diclorometano y se agitó por 10 minutos. Se centrifugó 5 minutos a 3500 g y se eliminó la capa superior acuosa. Se evaporó a 50-60 °C y se disolvió el

residuo en 2,0 ml de NaHCO_3 0.13 M pH 8.1. Se utilizó 50 μl para el ELISA. Las muestras se analizaron por duplicado.

Extracción del café

A 2,0 g de café tostado y molido se le agregó 5,0 ml de HCl 1 N y se agitó por 5 minutos. Se agregó 10 ml de diclorometano y se agitó por 15 minutos y luego se centrifugó a 3500 g por 15 minutos. Se eliminó la capa superior y se filtró, se le agregó 10 ml de NaHCO_3 0.13 M pH 8.1 y se agitó por 15 minutos. Se centrifugó 5 minutos a 3500 g y se utilizó 50 μl para el ELISA. Las muestras se analizaron por duplicado.

Método de ELISA

Se utilizó el método de RIDASCREEN Ochratoxin A® de R-Biopharm GmbH, Alemania, tal y como lo indica la casa comercial (15). Se colocó en cada pocillo 50 μl de muestra y patrones por duplicado y se agregó 50 μl de conjugado enzimático a cada uno. Se mezcló y se incubó por 2 horas a temperatura ambiente y en oscuridad. Se removió el líquido de los pocillos y se secó con papel absorbente. Se lavó 3 veces con 250 μl de agua destilada. Se agregó 50 μl de cromógeno a cada pocillo, se mezcló y se incubó 30 minutos a temperatura ambiente en la oscuridad. Se agregó 100 μl del reactivo que detiene la reacción, se mezcló y se obtuvo la absorbancia a 450 nm contra blanco de aire.

Este método tiene para suero un porcentaje de recuperación del 73% con un coeficiente de variación promedio del 14% y para cereales y concentrados animales un porcentaje de recuperación del 85%. Su límite de detección en suero es de 25 ng/L y en cereales y concentrados animales es de 625 ng/kg.

RESULTADOS

En la Tabla 1 se encuentran los resultados obtenidos de Ocratoxina A en plasma humano de no bebedores y bebedores de café.

TABLA 1
Resultados obtenidos de Ocratoxina A en plasma humano de no bebedores y bebedores de café

	No bebedores de café	Bebedores de café	Total muestras
Total de muestras	55(37%)	94(63%)	149
Con Ocratoxina A	54(38%)	87(62%)	142(95%)
Sin Ocratoxina A	1(12,5%)	7(87,5%)	8(5%)
Intervalo ng/L	67-1162	10-1906	10-1906
Promedio ng/L	565*	680*	622
Desv. Standard ng/L	275	345	310

* = $p > 0.05$

En la Tabla 2 están los resultados obtenidos de Ocratoxina A en las muestras de café tostado y molido de torrefactoras y de café tostado y molido de supermercados.

La Tabla 3 contiene los resultados obtenidos de Ocratoxina A en plasma humano de no bebedores y bebedores de cerveza.

TABLA 2
Resultados obtenidos de Ocratoxina en muestras de café tostado y molido de torrefactoras y de café tostado y de supermercados

Tipo de café tostado y molido	Ocratoxina A en ng/kg
Torrefactora A	36
Torrefactora B	497
Torrefactora C	23
Torrefactora D	4
Torrefactora E	136
Torrefactora F	15
Torrefactora G	118
Torrefactora H	22
Torrefactora J	19
Torrefactora K	35
Torrefactora L	24
Torrefactora M	12
Supermercado 1	960
Supermercado 2	890
Supermercado 3	870
Supermercado 4	920
Supermercado 5	0
Supermercado 6	910
Supermercado 7	880

TABLA 3
Resultados obtenidos de Ocratoxina A en plasma humano de no bebedores y bebedores de cerveza

	No bebedores de cerveza	Bebedores de cerveza	Total muestras
Total de muestras	69(49%)	74(51%)	143
Con Ocratoxina A	65(48,5%)	69(51,5%)	134
Sin Ocratoxina A	5(56%)	4(44%)	9
Intervalo ng/L	20-1906	10-1200	10-1906
Promedio ng/L	648*	630*	639
Desv. Standard ng/L	341	321	331

* = $p > 0.05$

DISCUSION

El método de cromatografía de líquidos (HPLC) es un método exacto y preciso que ha sido aceptado como método oficial (AOAC International 994.08) y como método de referencia para algunas micotoxinas, sin embargo requiere de instrumentación de elevado costo y de una alta capacitación del usuario (1). Por lo tanto se han desarrollado métodos

inmunoquímicos comerciales para facilitar estos análisis como los métodos de ELISA, método utilizado en este estudio.

En las muestras analizadas se encontraron niveles de ocratoxina A en plasma en un intervalo que va de los 10 ng/L hasta los 1906 ng/L con un valor promedio de 622 ng/L, concentraciones en su mayoría realmente altas que reflejan una ingesta elevada de la micotoxina. Otros países más desarrollados que el nuestro han utilizado HPLC, es así como en Canadá se ha reportado un rango de concentración que va de 290 a 2370 ng/L, en Suiza al Norte de los Alpes valores tan altos como 2150 ng/L y el más bajo 60 ng/L (16).

Al igual que en muchos otros países, Costa Rica no es la excepción en cuanto a la prevalencia de ocratoxina A en plasma, ya que en este estudio se obtuvo la presencia de la micotoxina en el 95% de las muestras estudiadas. Esta investigación es muy importante para el país ya que es el primer estudio que se realiza de OTA en plasma humano.

Otros investigadores también han publicado la prevalencia de ocratoxina A en plasma humano obtenida por HPLC semejante a las nuestras realizadas por ELISA, así se ha reportado presencia de la micotoxina en Suiza del 100%, Túnez del 82%, Argelia del 86% y Francia del 20% (17) y más recientemente en España (18), Canadá, Croacia e Italia en el 100%, Suecia en el 29% y República Checa en el 98% (16,19). Por lo tanto este hallazgo no es nada nuevo en el mundo y se confirma la presencia de la OTA en sangre humana de la población estudiada en Costa Rica.

Como Costa Rica es un excelente productor y gran consumidor de café se estudió la presencia de la ocratoxina A en este grano tostado y molido. A excepción de una muestra de café que dio resultado negativo, el resto de muestras analizadas presentaron la micotoxina en concentraciones menores al límite máximo permitido de ocratoxina A en Estados Unidos (20) Portugal, España e Italia que es de 4000 ng/L o kg (21). Además cumple con el límite máximo de Alemania que es aún más bajo, 3000 ng/L o kg (21).

La OTA ha sido aislada del café desde hace tiempo en otros países (22-24). En investigaciones realizadas con café de consumo europeo se detectó que la cantidad promedio en 113 muestras analizadas fue de 900 ng/kg. Otros estudios demostraron valores de 800 ng/kg y 600 ng/kg. En un estudio realizado por Studer-Rohr (24) encontró que el 100% de las muestras de extracto de café tostado y molido analizadas por HPLC, contenían ocratoxina en cantidades de 2000 ng/kg. Esta situación se encuentra dentro de lo esperado, pues según Le Bars (23) la ocratoxina es un contaminante natural del producto del beneficiado y torrefacción del café. En el estudio realizado por Le Bars (23) se analizaron muestras de café molido y tostado encontrándose que la ocurrencia natural de la ocratoxina era de 600 a 900 ng/kg.

Según un estudio realizado por comisiones de diferentes países convocadas por la Codex/FAO/OMS en 1998 (24) se

logró determinar que el café representaba el 12% de la ingesta total de OTA en Europa, superado únicamente por los cereales (54%) y el vino (15%). En 2002, la Unión Europea en un estudio del programa SCOOP sobre la evaluación de la ingesta alimentaria de ocratoxina A por la población de Suecia, Noruega y Francia encontró de nuevo que el café hace una aportación menor en la ingesta global de OTA en Europa (21). Los cereales aportan la cantidad mayor (50%), vino (13%), el café (10%), especias (8%), cerveza (5%), cacao (4%) y fruta seca (3%). El jugo de frutas es el que más aporta en la categoría de otros (6%).

Es evidente que el problema de las ocratoxinas adquirió atención debido a la alta ocurrencia de estas toxinas en diferentes productos. Por lo tanto, según los resultados obtenidos en el presente trabajo se comprueba que el café de Costa Rica no está exento de esta situación, ya que es un país tropical en que las condiciones de humedad y temperatura favorecen el desarrollo de hongos. Lo importante de los resultados obtenidos en este estudio es que aunque la ocratoxina se encontró, los valores son bajos, lo que garantiza la calidad del café de Costa Rica y la aplicación de las buenas prácticas agrícolas que evitan el crecimiento de los mohos que producen la micotoxina.

Se trató de encontrar una asociación entre el consumo de café y la presencia de la ocratoxina A en el plasma, sin embargo no hubo diferencia estadísticamente significativa en el valor promedio de la micotoxina entre los tomadores y no tomadores de café, ya que el porcentaje de muestras positivas fue muy alto independientemente del consumo o no de café.

A pesar de que Costa Rica es también productor y alto consumidor de cerveza, tampoco se encontró relación estadísticamente significativa entre los consumidores de cerveza y la presencia de la ocratoxina A en plasma.

El origen de la presencia en plasma de la micotoxina en un porcentaje tan elevado se debe, probablemente, a la presencia de la ocratoxina A en una gran variedad de granos y cereales de consumo diario tales como arroz, cebada, avena, maní, maíz, sorgo, almendra, frijoles, semillas oleogenas de algodón, girasol y soya (2,4) y subproductos como harinas, además de frutos secos, frutas deshidratadas, leche y productos lácteos, hierbas, especias, café, cacao, piensos, aceites vegetales, cerveza y legumbres entre otros (2,6,7). Estos productos se han reportado contaminados con esta micotoxina en otros países y son consumidos con frecuencia por la población, razón por la cual no se puede atribuir únicamente al consumo de café o cerveza la presencia de la OTA en sangre.

Los hallazgos en este estudio justifican la investigación de la presencia de las ocratoxina A en estos otros alimentos por el método oficial como el HPLC, para evaluar el riesgo de consumir esta toxina a través de estos productos y tomar las acciones correctivas para eliminar o disminuir este peligro químico y evitar posibles patologías renales por esta causa.

REFERENCIAS

- Lara J. Métodos de determinación, identificación y control de micotoxinas en ingredientes para la nutrición animal. Area de micotoxinas, Foro de micotoxinas. 2006. Se consigue en URL: <http://www.Engormix.com>
- Bolet M, Socarrás M. Micotoxinas y cáncer. *Rev Cubana Invest Biomed* 2005; 24(1): 54-59.
- Gimeno A. Residuos de aflatoxinas y ocratoxina A en alimentos de origen animal (leche, huevos y tejidos comestibles). 2007. Se consigue en URL: http://www.Engormix.com/s_articulos_view.asp?art=1582&AREA=MYC
- Doyle M, Beuchat L, Montville T. *Food Microbiology. Fundamentals and Frontiers*. ASM PRESS; 2001.
- Frazier W, Westhoff D. *Microbiología de los alimentos*. Acribia, Zaragoza; 1993.
- Drusch S, Ragab W. Review Mycotoxins in fruits, fruit juices, and dried fruits. *J Food Prot* 2003; 66(8): 1514-1527.
- Gallego L Ma. Micotoxinas. 2007. Se consigue en URL: <http://www.analizacalidad.com/micotoxinas.htm>
- Chavarrias M. Evaluación y efectos de la ocratoxina A. 2006. Se consigue en URL: <http://www.consumaseguridad.com/web/es/sociedad-y-consumo>
- Petska J, Abouzied M, Sutikno, S. Immunological Assays for Mycotoxins Detection. *Food Technol* 1995; 49(2): 120-128.
- Internacional Program on Chemical Safety (IPCS). *Environmental Health Criteria 105. Selected Mycotoxins: Ochratoxins, Trichothecenes, Ergot*. Geneve: World Health Organization; 1990.
- Chu F.S. Interaction of Ochratoxin A with Bovine Serum Albumin. *Arch Biochem Biophys* 1971; 147: 359-366.
- Hult K, Plestina R, Habazin-Novak V, Radic B, Ceovic S. Ochratoxin A in human blood and Balkan endemic nephropathy. *Arch. Toxicol.* 1982; 51: 313-321.
- Bauer J, Gareis M. Ochratoxin A in the food chain. *J Vet Med B* 1987; 34: 613-627.
- Documento de posición sobre la Ocratoxina A. Tema 14 (a). Comisión del Codex alimentarius. Programa conjunto FAO/OMS sobre normas alimentarias. La Haya, Países Bajos: 31 Reunión Comité del Codex sobre aditivos alimentarios y contaminantes de los alimentos CX/FAC 99/14, noviembre 1998; 22-26 marzo de 1999.
- Enzyme immunoassay for the quantitative analysis of Ochratoxin A. RIDASCREEN Ochratoxin A. R-Biopharm GmbH, Germany.
- Peraica M, Radic B, Lucic A, Paulovic M. Efectos tóxicos de las micotoxinas en el ser humano. *Bulletin of the World Health Organization*, 1999, 77 (9): 754-766.
- Filali A, Betbeder AM, Baudramont I, Benayada A, Soulaymani R, Creppy E. Ochratoxin A in human plasma in Morocco: a preliminary survey. *Hum Exp Tox* 2002; 21:241-245.
- López A. Ocratoxina A: exposición en España y nuevos aspectos sobre toxicidad. *Rev Toxicol* 2003; 20: 72-73.
- Arbilla L, Ezpeleta O, López A. ¿Es la Ocratoxina A una micotoxina mutagénica?. *Rev Toxicol* 2004; 21: 1-10.
- Coffee Science Information Centre Spoilage of coffee by moulds. COSIC, Inglaterra 1996.

21. FAO/ONU para agricultura y alimentación. Reducción de la ocratoxina A en el café. 2007. Se consigue en : URL: <http://www.coffee-ota.org/faq.asp>.
22. Prado R. Ocratoxina A en café brasileiro. Editorial Campinas, Brasil, 1998.
23. Le Bars J. & Le Bars P. Mycotoxigenesis in grain application to mycotoxic prevention in coffee. 1998. Laboratoire de Pharmacologie-Toxicologie Inr.A., Toulouse, Francia.
24. Studer-Rohr; Dietrich D, Schlatter J, Schlatter C. The occurrence of ochratoxin A in coffee. 1995. Food Chemistry Toxic 33 (5): 341-355.
25. CODEX/FAO/OMS. Comisión del Codex sobre aditivos alimentarios y contaminantes de los alimentos: Documento de posición sobre la ocratoxina A: 31 reunión, La Haya, Países Bajos, Roma, noviembre, CX/FAC99/44. 1998. Roma.

Recibido:15-06-2007

Aceptado:24-07-2007

Alto contenido de ácido linoleico conjugado (CLA) en leche y productos derivados al incorporar semillas de girasol a la dieta vacuna. Implicaciones sobre el riesgo trombo/aterogénico

Eryck R. Silva Hernández, Ma. Miriam Suarez Jácome, Rosa Guadalupe Herrera Lee, Takuo Nakano, Lech Ozimek y Iñigo Verdalet Guzmán

Universidad Veracruzana, Xalapa, Veracruz, México. Alberta Dairy Association Research Unit, c/o Department of Agricultural, Nutrition and Food Science, University of Alberta, Edmonton, Alberta, Canada

RESUMEN. Con la finalidad de determinar el perfil de ácidos grasos y la composición química de productos lácteos enriquecidos con ácido linoleico conjugado (CLA) de manera natural, se elaboraron crema, mantequilla y grasa butírica con leche obtenida de vacas que recibieron una dieta control o suplementación con semilla de girasol en un 11.2%. El análisis químico incluyó el perfil de ácidos grasos, materia grasa, proteína y cenizas; en la leche se determinó además el contenido de lactosa. Se calcularon los índices de aterogenicidad (IA) y trombogenicidad (IT) en la leche y productos elaborados. Los resultados indicaron que los contenidos de grasa, proteína, lactosa y ceniza no fueron afectados por la incorporación de semilla de girasol en la dieta de los animales. El contenido promedio de CLA y ácido trans vaccénico (TVA) expresados en g/100 g de lípidos totales fue, para los productos control, 0.54 y 1.6; mientras que para los productos ricos en CLA fueron 2 y 6.4, lo cual representa un incremento de cuatro veces. Además, en los productos ricos en CLA los IA e IT disminuyeron considerablemente (38.4 y 25% menos, respectivamente). Se observó que los perfiles de ácidos grasos no se modificaron durante el procesamiento, indicando que el CLA es un componente estable en los productos lácteos analizados. El uso de semilla de girasol en la dieta de las vacas, incrementa el contenido de CLA y TVA en los productos lácteos y disminuye el riesgo de enfermedades cardiovasculares en humanos sin afectar la proporción de los componentes mayoritarios.

Palabras clave: Acido linoleico conjugado, ácido trans vaccénico, índice de aterogenicidad, índice de trombogenicidad, crema, mantequilla, grasa butírica.

INTRODUCCION

La leche es un alimento excelente e indiscutible desde el punto de vista nutricional, sin embargo, en las últimas décadas ha sido sustituido en los adultos por productos con menor cantidad de grasas saturadas y colesterol. El consumidor ha aceptado la teoría de que las grasas animales conducen irremediamente a las enfermedades cardiovasculares y a la tumorigénesis (1).

SUMMARY. High conjugated linoleic acid (CLA) content in milk and dairy products using a dietary supplementation of sunflower seed in cows. Thrombogenic/atherogenic risk issues. This study was undertaken to determine the effect of dietary supplementation of sunflower seed in cows on the chemical composition of milk and dairy products. Cream, butter and butter oil were prepared from milk produced by cows fed a control diet (control products) or diet supplemented with 11.2% sunflower seed (CLA-rich products). Milk samples collected were determined for lactose. A sample of CLA-rich or control product was determined for fatty acid profile as well as fat, protein and ash contents. The index of atherogenicity (IA) and the index of thrombogenicity (IT) were also calculated. Results revealed that there was no effect of the inclusion of sunflower seed in the diet on the lactose content in milk and total fat, protein and ash contents in the dairy products. Average contents of conjugated linoleic acid (CLA) and transvaccenic acid (TVA), expressed as g/100g total fatty acid were 0.54 and 1.6, respectively in the control products, and 2 and 6.4, respectively in the CLA-rich products. The content of either CLA or TVA was approximately four fold higher in the latter products. Moreover, CLA-rich products showed considerably low IA and IT, which were, respectively, 38.4 and 25.0% less than those from control products. Fatty acid profiles were unaffected during processing, which demonstrates that CLA is a stable component in the dairy products analyzed. It was concluded that dietary supplementation of sunflower seed in cows increases the CLA and TVA contents in milk, which may contribute to the reduction of the risk of cardiovascular diseases in humans.

Key words: Conjugated linoleic acid, transvaccenic acid, index of atherogenicity, index of thrombogenicity, cream, butter, butter oil.

Los gobiernos y las instituciones de atención a la salud de varios países recomiendan que las personas reduzcan la ingestión de grasa en la dieta y sustituyan las grasas saturadas con aceites poliinsaturados (2). Debido a la gran demanda de alimentos bajos en grasa, la industria de los alimentos está buscando sustitutos de grasas en la dieta (1). Sin embargo, algunas grasas de la dieta son esenciales para mantener un crecimiento y desarrollo adecuados, ya que proveen ácidos grasos esenciales, vitaminas liposolubles y proporcionan altas cantidades de energía (2).

El ácido linoleico conjugado (CLA) es un término colectivo usado para describir uno o más isómeros posicionales y geométricos del ácido linoleico. El isómero *cis*-9, *trans*-11 representa de 80 a 90 % del total de CLA en la grasa de la leche y es el que se ha relacionado con la actividad anticarcinogénica (3). Este ácido graso bioactivo está presente en mayor proporción en productos de animales rumiantes tales como leche y carne. Estudios con animales han demostrado que el CLA tiene la propiedad de inhibir células cancerosas, disminuir las concentraciones de colesterol LDL y glucosa en sangre, entre otras funciones (4).

Aunque es aceptado que el CLA es producido como primer intermediario durante la biohidrogenación del ácido linoleico (C18:2) suministrado en la dieta de los rumiantes, existen evidencias de que gran parte del isómero *cis*-9, *trans*-11 que se encuentra en la leche, es sintetizado a partir del ácido trans vaccénico (TVA) (5), por lo que el TVA debe ser considerado por su efecto benéfico a la salud y no como un riesgo por ser un ácido graso *trans*.

Típicamente las concentraciones de CLA en la grasa de la leche están entre 3 y 6 mg/g, aunque la concentración varía por efecto de la estación, raza, edad y la variación individual de los animales; sin embargo, la dieta es un factor que tiene mayor influencia, encontrándose valores de hasta 5.63 g de CLA/100 g de grasa en la leche en animales alimentados con dietas altas en grasa (6). El interés por manipular la dieta de las vacas con el fin de incrementar la concentración de este ácido graso en la leche ha cobrado importancia en los últimos años, por lo que se han realizado numerosas investigaciones suplementando a los animales con semillas ricas en ácido linoleico y α -linolénico (7), semillas protegidas con formaldehído (8), aceite de pescado (9, 10) e infusiones directas de CLA en el abomaso (11).

Los productos ricos en grasa, como la crema y la mantequilla, representan potencialmente una fuente significativa de CLA. Por otro lado, la industria está interesada en obtener concentrados de CLA para poder ser empleados en otros productos, lo cual podría ser obtenido a partir de la grasa butírica, sin embargo, los procesos térmicos y mecánicos que se utilizan para obtenerla podrían causar una modificación de la estructura del CLA, por lo que es importante realizar estudios que permitan conocer cómo se comporta este ácido graso durante el procesamiento, ya que la información disponible al respecto es muy escasa. Por tal motivo el objetivo del presente estudio fue determinar el perfil de ácidos grasos y la composición química de leche, crema, mantequilla y grasa butírica ricas en CLA.

MATERIAL Y METODOS

Preparación de las muestras

La leche fue obtenida en la Estación de Investigación de Edmonton de la Universidad de Alberta, Canadá. Las vacas recibieron una dieta control (Productos control) o suplementación con semilla de girasol en un 11.2% del total del alimento en materia seca (Productos ricos en CLA). Se elaboraron crema, mantequilla y grasa butírica tanto con leche rica en CLA como leche control de acuerdo a las metodologías sugeridas por el Dairy Processing Handbook (12). La separación de la crema se realizó en una centrífuga Alfa Laval AB (LAPX202BGT-24) a 3000 x g utilizando leche previamente calentada a 70°C. Posteriormente la crema se pasteurizó a 90°C durante 10 s y se almacenó a 8°C durante 24 horas. Transcurrido este tiempo, se calentó la crema a 18°C y se procedió a elaborar la mantequilla utilizando una mantequillera Gilson Tylor, 6F. Para obtener la grasa butírica, la mantequilla se fundió mediante calentamiento a 60°C manteniéndose a una temperatura aproximada de 60-70°C durante 60 minutos para asegurar que todo el material se encontrara en estado líquido, posteriormente el aceite se concentró en la misma centrífuga en la que se obtuvo la crema. Se tomaron muestras de cada uno de los productos obtenidos durante el proceso y se almacenaron a 4°C para su posterior análisis, con excepción de las muestras utilizadas para la determinación del perfil de ácidos grasos, las cuales fueron almacenadas a -30°C antes de su preparación para su análisis en cromatografía de gases.

Perfil de ácidos grasos

La extracción de la materia grasa de la leche se llevó a cabo utilizando la metodología descrita por Folch *et al.* (13) con una solución de cloroformo y metanol en una relación 2:1 (24 mL/2 mL de muestra) seguido por 8 mL de una solución de NaCl al 0.88%. Los ácidos grasos obtenidos fueron transesterificados con metóxido de sodio de acuerdo a la metodología propuesta por Christie (14) y Chouinard *et al.* (15). Los ésteres metilados de ácidos grasos en hexano (conocidos como FAME, por sus siglas en inglés, Fatty Acid Methyl Esters) fueron inyectados en un cromatógrafo de gases Varian 3600 equipado con un detector de ionización de flama. Los FAME fueron separados en una columna capilar Supelco SP2560 (100 m x 0.25 mm x 0.2 μ m) usando helio como gas acarreador con un flujo de 1 mL por minuto. La temperatura inicial de la columna fue de 40°C y se mantuvo durante 4 minutos, posteriormente se incrementó hasta 175°C a 13°C/min manteniéndose por 25 minutos, transcurrido este tiempo, se incrementó la temperatura hasta 215°C a 4°C/min permaneciendo así durante 23 minutos. Finalmente la temperatura fue incrementada a 230°C a 5°C/min y se mantuvo por 17.5 minutos. La temperatura inicial del inyector

fue de 50°C manteniéndose durante 0.2 minutos para después incrementarse a una velocidad de 150°C/min hasta una temperatura máxima de 230°C que permaneció durante 96 minutos.

Los picos de cada ácido graso fueron identificados por sus tiempos de retención con referencia a los estándares de metil ésteres puros (NuChekPrep 463). Los isómeros de CLA (*cis*-9, *trans*-11 y *trans*-10, *cis*-12) fueron identificados por su tiempo de retención utilizando sus respectivos estándares. La identificación y análisis de los picos se realizó usando el software Shimadzu. El porcentaje de cada ácido graso fue calculado dividiendo el área bajo la curva de cada pico entre la suma total de las integrales de los ácidos grasos identificados.

Determinación de materia grasa, proteína, lactosa y cenizas

La materia grasa en crema se determinó mediante la técnica de Babcock (16). La determinación de materia grasa en mantequilla y grasa butírica se realizó mediante un equipo de extracción continua de grasa Goldfish (Labconco Co., USA), utilizando éter de petróleo como solvente. La técnica de Lowry (18) fue empleada para determinar las concentraciones de proteína en crema, mantequilla y grasa butírica, midiéndose la absorbancia de las muestras a una longitud de onda de 740 nm a través de un espectrofotómetro Hewlett Packard 8452A Pro-Spec 486. La lactosa, proteína y grasa en la leche fueron determinadas mediante espectroscopía infrarroja utilizando un equipo MilkoScan Analyzer (Foss Electric, Dinamarca). El contenido de sólidos totales y cenizas en la leche y en los productos lácteos elaborados fue obtenido por las técnicas de desecación en estufa y calcinación en mufla, respectivamente, propuestas por la AOAC (16).

Índice de aterogenicidad y trombogenicidad

Los índices de aterogenicidad (IA) y trombogenicidad (IT) de los productos ricos en CLA y de sus correspondientes controles fueron obtenidos de acuerdo a las fórmulas propuestas por Ulbricht y Southgate (17):

$$IA = \frac{aS' + bS'' + cS'''}{dP + eM + fM'}$$

Donde S' es la concentración en g/100 g de C12:0; S'' la de C14:0; S''' la de C16:0; P es la suma de las concentraciones de los ácidos grasos poliinsaturados; M es la de C18:1 y M' es la suma de las concentraciones de otros monoinsaturados. Asimismo, a-f son constantes empíricas, donde a, c, d, e, f tienen un valor de 1, mientras que b vale 4. Estas constantes están relacionadas con el potencial aterogénico o antiaterogénico de cada ácido graso o grupo de ácidos grasos. En el caso del ácido mirístico (S''), por ejemplo, el coeficiente empleado "b" tiene un valor de 4 debido a que su potencial aterogénico es alrededor de cuatro veces mayor que el del ácido palmítico (S''').

$$IT = \frac{mS^{iv}}{nM + oM' + p(\omega 6) + q(\omega 3) + \omega 3 / \omega 6}$$

Donde S^{iv} es la suma de las concentraciones en g/100 g de C14:0, C16:0 y C18:0; ω6 son las concentraciones de los ácidos grasos poliinsaturados ω6; ω3 son las de los ácidos grasos poliinsaturados ω3; M es la concentración de C18:1 y M' es la suma de las concentraciones de otros monoinsaturados. De la misma manera, m-q son constantes empíricas donde m tiene un valor de 1; n, o y p tienen un valor de 0.5 y q un valor de 3. Estas constantes, al igual que en la fórmula de aterogenicidad, están relacionados con el potencial aterogénico o antiaterogenicidad de cada ácido graso o grupo de ácidos grasos.

Análisis estadístico

Con los resultados de los análisis químicos se construyeron bases de datos en el paquete estadístico Statistica 2000 (19) calculándose promedios y desviaciones estándar, además de realizarse análisis de varianza (ANOVA). Con los datos de los perfiles de los ácidos grasos, se realizaron gráficas de estrellas.

RESULTADOS

La Tabla 1 presenta la composición de las leches empleadas así como de los productos elaborados en el presente estudio. Ninguno de los componentes presentó diferencias significativas (p>0.05) al compararse la leche rica en CLA con su correspondiente control.

TABLA 1

Composición de la leche, crema, mantequilla y grasa butírica ricos en ácido linoleico conjugado (CLA) y de su control correspondiente (g/100 g base seca). La desviación estándar se muestra entre paréntesis

Componente	Producto rico en CLA	Producto control
Leche		
Grasa	30.0 (2.7)	31.8 (4.4)
Proteína	30.5 (0.5)	29.1 (1.0)
Lactosa	39.6 (0.5)	38.0 (0.5)
Cenizas	6.5 (0.6)	5.7 (0.7)
Crema		
Grasa	85.4 (3.9)	86.7 (3.8)
Proteína	6.2 (0.6)	5.0 (0.6)
Cenizas	1.6 (0.3)	1.3 (0.4)
Mantequilla		
Grasa	90.6 (3.2)	93.7 (0.9)
Proteína	1.6 (0.3)	1.1 (0.04)
Cenizas	0.3 (0.04)	0.2 (0.03)
Grasa butírica		
Grasa	97.1 (3.5)	98.9 (1.2)
Proteína	0.25 (0.01)	0.1 (0.01)
Cenizas	ND	ND

ND: No detectable

En lo referente a la composición de los productos elaborados, el contenido de materia grasa en base seca es, por mucho, el más abundante en los seis productos analizados (tres ricos en CLA y tres control). El análisis estadístico no reveló diferencias significativas ($p>0.05$) en este componente entre los productos elaborados con CLA y su correspondiente control. Con excepción de la crema, en donde se detectó una cantidad importante de proteína, el resto de los componentes en todos los productos fue básicamente despreciable (Tabla 1).

Un resumen del perfil de los ácidos grasos de los productos analizados así como los índices de aterogenicidad y

trombogenicidad se presentan en la Tabla 2. En donde se observa no sólo una reducción importante de la cantidad de ácidos grasos saturados en los productos ricos en CLA respecto a los control, sino una disminución de los índices tanto de aterogenicidad como de trombogenicidad. Sin embargo, los productos elaborados con leche rica en CLA mostraron un índice de aterogenicidad de 1.3, lo cual representa una reducción de 38.4%. En lo que respecta al índice trombogénico, los productos ricos en CLA también mostraron valores apreciablemente menores que los controles.

TABLA 2
Resumen del perfil de ácidos grasos de leche, crema, mantequilla y grasa butírica ricos en ácido linoleico conjugado (CLA) y de su control correspondiente (g/100 g de lípidos)

	Leche		Crema		Mantequilla		Grasa butírica	
	CLA	C ¹	CLA	C	CLA	C	CLA	C
Saturados ²	54.18	68.25	54.39	65.51	54.58	65.71	54.73	60.93
Saturados (C4-12)	7.86	12.88	7.92	13.47	8.10	13.63	7.98	11.99
CLA ³	2.05	0.52	2.00	0.54	2.08	0.52	2.12	0.59
TVA ⁴	6.29	1.44	6.28	1.54	6.50	1.59	6.67	1.87
Monoinsaturados	38.60	30.97	38.60	29.87	38.50	29.95	38.29	33.60
Poliinsaturados	4.16	3.38	4.11	3.42	4.20	3.37	4.15	3.63
IA ⁵	1.29	2.12	1.30	2.25	1.31	2.27	1.33	1.80
IT ⁶	2.12	2.86	2.12	2.98	2.12	2.99	2.16	2.51

¹ Control

² Incluye todos los ácidos grasos saturados

³ Acido Linoleico Conjugado (C 18:2 *cis* 9, *trans* 11)

⁴ Acido *Trans* Vaccénico (C 18:1 *trans* 11)

⁵ Índice de aterogenicidad

⁶ Índice de trombogenicidad

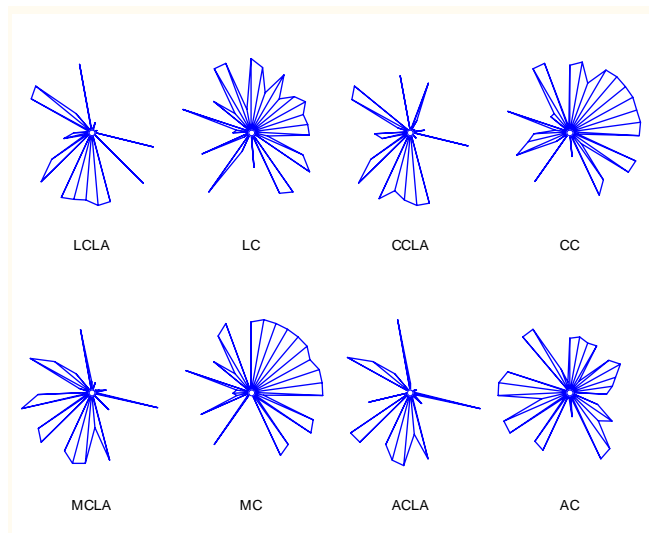
Lo anterior es resultado de la disminución del contenido de ácidos grasos saturados y del aumento de ácidos grasos insaturados en los productos ricos en CLA. En este sentido, los ácidos grasos saturados disminuyeron 16% con respecto a los productos control, sin embargo la reducción más importante corresponde a los ácidos grasos saturados de cadena corta (C4-C12), que fue de 39%, lo cual indica una inhibición considerable de la síntesis de *novo* de ácidos grasos. Los ácidos grasos monoinsaturados y poliinsaturados representaron el 43% del total de ácidos grasos analizados en los productos ricos en CLA, mientras que en los productos control correspondieron al 35%.

Los contenidos de ácido *trans* vaccénico (TVA) y ácido linoleico conjugado (CLA) en los productos ricos en CLA fueron 6.29 y 2.06 g/100 g de grasa, respectivamente, correspondiendo a un incremento de cuatro veces con respecto a los productos control. El isómero *cis*-9, *trans*-11 representó el 100% del CLA determinado en este estudio.

En la Figura 1, se muestra en forma comparativa el perfil de ácidos grasos de los productos analizados. En este gráfico de estrellas se aprecia cómo los productos ricos en CLA tienen perfiles de ácidos grasos similares entre sí, pero diferentes a los productos control, los cuales también muestran similitud entre ellos mismos. Es importante destacar que la semejanza en los perfiles de ácidos grasos entre los productos ricos en CLA, demuestra que los tratamientos tanto térmicos como mecánicos aplicados para su fabricación parecen no modificar tales perfiles, lo cual es muy interesante dado el incremento de ácidos grasos insaturados. Asimismo, esto confirma que el CLA es un compuesto estable durante el procesamiento, ya que su concentración se aprecia evidentemente constante durante la transformación de la leche hasta la grasa butírica, pasando por la crema y la mantequilla (Tabla 2).

FIGURA 1

Perfil de ácidos grasos de los productos elaborados. LCLA: leche rica en CLA; LC: leche control; CCLA: crema rica en CLA; CC: crema control; MCLA: mantequilla rica en CLA; MC: mantequilla control; ACLA: grasa butírica rica en CLA; AC: grasa butírica control



DISCUSION

A diferencia de lo encontrado en este estudio, algunos autores han demostrado que la alimentación de las vacas tiene un efecto importante sobre la composición de la leche, especialmente en su contenido de grasa (20). La suplementación con aceite de pescado (2-3.7% en materia seca) o infusiones directas de CLA al abomaso (50-150 g de CLA por día) han causado reducción en los contenidos de grasa, proteína (11), lactosa en la leche y sólidos totales (9).

En contraste a los suplementos que incluyen aceites libres, se ha encontrado que cuando las vacas son alimentadas con semillas oleaginosas (semilla de girasol, linaza, soya), los componentes de la leche no disminuyen, debido probablemente a la liberación lenta de los ácidos grasos durante la digestión ruminal (7). Esto coincide con lo encontrado en esta investigación, en donde se utilizó semilla de girasol (11.2% en materia seca) como fuente rica en ácido linoleico en la dieta de las vacas.

Aunque los índices tanto de aterogenicidad como de trombogenicidad se ven relativamente disminuidos en este estudio, Ulbricht y Southgate (17), en una investigación sobre siete factores dietéticos relacionados con enfermedades cardiovasculares, indicaron que los productos lácteos como la leche, mantequilla y queso tienen un alto índice de aterogenicidad (2.03), valor muy similar al determinado en este estudio para los productos control (2.11). Sin embargo, es importante recalcar que los productos elaborados con leche

rica en CLA en este estudio mostraron índices de aterogenicidad y trombogénico apreciablemente menores que los control.

Baer *et al.* (9) y Ramaswamy *et al.* (10) encontraron contenidos de ácidos grasos insaturados muy similares a los obtenidos en este estudio, mientras que el contenido de ácidos grasos insaturados señalado por Lynch *et al.* (21) en los productos ricos en CLA corresponde a un 50 % del total de ácidos grasos.

Los contenidos de ácido *trans* vaccénico (TVA) y ácido linoleico conjugado (CLA) encontrados en este estudio son muy similares a los obtenidos por Ramaswamy *et al.* (10), 4.08 y 2.3 g y Baer *et al.* (9), 6.28 y 2.5 g de TVA y CLA/100 g de grasa, respectivamente, pero inferiores a los publicados por Lynch *et al.* (21), 12.06 y 4.74 g y Jones *et al.* (22), 14.3 y 4.6 g de CLA/100 g de grasa, respectivamente. Estos contenidos de CLA y TVA representan los valores más altos en los productos donde se han realizado evaluaciones fisicoquímicas, utilizándose aceite de pescado como suplemento en la dieta de los animales en un 2% del total de la materia seca. El isómero *cis*-9, *trans*-11 representó el 100% del CLA determinado en este estudio, el cual es asociado con las propiedades anticancerígenas de éste ácido graso bioactivo (3). La transferencia de los otros isómeros del CLA a la leche se ha encontrado cuando se utilizan suplementos con CLA sintético (11).

Existe evidencia de que algunos de los ácidos grasos de cadena larga se encuentran enlazados con algunas proteínas del suero, especialmente con la β -lactoglobulina (23), lo cual podría representar una protección de los ácidos grasos contra la isomerización y oxidación durante el procesamiento (24). Por otra parte, Zegarska (25) menciona que durante algunos procesos tecnológicos los glóbulos se adsorben con algunas proteínas debido a la ruptura de su membrana. En el caso específico de la mantequilla y la grasa butírica, la cantidad de proteína es apreciablemente pequeña y la protección contra la isomerización y oxidación que ésta podría proporcionar sería mínima.

CONCLUSIONES

El cambio de dieta en las vacas trae usualmente un cambio en la proporción del contenido de grasa, proteína, lactosa y/o cenizas en la leche, sin embargo, esta proporción no fue afectada por la incorporación de semilla de girasol en la dieta de las vacas empleadas en este estudio al compararla con la composición de la leche control. El uso de estas semillas de girasol como fuente de ácido linoleico permitió la obtención de leche rica en ácido linoleico conjugado (CLA), que a su vez fue transformada en crema, mantequilla y grasa butírica ricas en este ácido graso. Los contenidos de CLA y el ácido *trans* vaccénico aumentaron cuatro veces aproximadamente

en los productos ricos en CLA con respecto a los productos control, lo cual podría cubrir la dosis mínima recomendada para que el CLA produzca un efecto benéfico. Del mismo modo, tanto la leche como los productos lácteos elaborados ricos en CLA presentaron una disminución considerable tanto de los ácidos grasos saturados, como de los índices de aterogenicidad y trombogenicidad, así como un aumento en los ácidos grasos insaturados. Se demostró también que los tratamientos térmicos y mecánicos utilizados en la elaboración de los productos lácteos en este estudio no afectaron los perfiles de ácidos grasos.

REFERENCIAS

- Deckere EAM and Verschuren PM. Functional fats and spreads. In: Functional Foods. Concept to Product. Editores G.R Gibson and CM Williams (eds.). Woodhead Publishing Limited. Cambridge, England. 2000 pp. 233-251.
- Gurr MI. Health aspects of dairy and confectionery fats. In: Production and application of confectionery fats. Society of chemical industry (Great Britain). Edited by oils and fat groups. Ed. P.J. Barnes & Associates. Bridgwater, England. 1997 pp. 1-18.
- Pariza MW, Park Y and Cook ME. Minireview. Mechanisms of action of conjugated linoleic acid: evidence and speculation. P.S.E.B.M. 2000; 223: 8-13.
- O'Quinn PR, Nelssen JL, Goodband RD and Tokach MD. Conjugated linoleic acid. Anim Health Res Rev 2000; 1(1): 35-46.
- Bauman DE, Baumgard LH, Corl BA and Griinari JM. Biosynthesis of conjugated linoleic acid in ruminants. Proc Am Soc Animal Sci 1999. Disponible en: <http://www.asas.org/jas/symposia/proceedings/0937.pdf>.
- Bell JA and Kennelly JJ. Conjugated linoleic acid enriched milk: a designer milk with potential. Adv Dairy Technol 2001; 13: 213-227.
- Collomb M, Sollberger H, Butikofer U, Sieber R, Stoll W and Schaeren W. Impact of a basal diet of hay and fodder beet supplemented with rapeseed, linseed and sunflowerseed on the fatty acid composition of milk fat. Int Dairy J 2004; 14 (6): 549-559.
- Tymchuck SM, Khorasani GR and Kennelly JJ. Effect of feeding formaldehyde-and heat-treated oil seed on milk yield and milk composition. Can J Anim Sci 1998; 78: 693-700.
- Baer RJ, Ryall J, Schingoethe DJ, Kasperson KM, Donovan DC, Hippen AR and Franklin ST. Composition and properties of milk and butter from cows fed fish oil. J Dairy Sci 2001; 84: 345-353.
- Ramaswamy N, Baer RJ, Schingoethe DJ, Hippen AR, Kasperson KM and Whitlock LA. Composition and flavor of milk and butter from cows fed fish oil, extruded soybeans, or their combination. J Dairy Sci 2001; 84: 2144-2151.
- Chouinard PY, Corneau L, Barbano DM, Metzger LE and Bauman DE. Conjugated linoleic acids alter milk fatty acid composition and inhibit milk fat secretion in dairy cows. J Nutr 1999; 129: 1579-1584.
- Dairy Processing Handbook. Ed. Tetra Pak Processing Systems AB. 1995 436 p.
- Folch J, Lees M and Stanley GHS. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. J Biol Chem 1957; 226: 477-480.
- Christie WW. A simple procedure for transmethylation of glycerolipids and cholesterol esters. J Lipid Res 1982; 23: 1073-1075.
- Chouinard PY, Corneau L, Saebo A and Bauman DE. Milk yield and composition during abomasal infusion of conjugated linoleic acids in dairy cows. J Dairy Sci 1999; 82: 2737-2745.
- AOAC. Official Methods of Analysis of AOAC International. 16^a ed. Association of Official Analytical Chemists. Gaithersburg, Maryland. 1998.
- Ulbricht TLV and Southgate DAT. Coronary heart disease: seven dietary factors. Lancet 1991; 338: 985-992.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL and Randall RJ. J Biol Chem 1951; 195:265-275.
- StatSoft, Inc. STATISTICA for Windows [Computer program manual]. Tulsa, OK: StatSoft, Inc., 2300 East 14th Street, Tulsa, OK 74104, phone: (918) 749-1119, fax: (918) 749-2217, email: info@statsoft.com, WEB: <http://www.statsoft.com>. 2000.
- Ashes JR, Gulati SK and Scott TW. Potential to alter the content and composition of milk fat through nutrition. J Dairy Sci 1997; 80: 2204-2212.
- Lynch JM, Lock AL, Dwyer DA, Noorbakhsh R, Barbano DM and Bauman DE. Flavor and stability of pasteurized milk with elevated levels of conjugated linoleic acid and vaccenic acid. J Dairy Sci 2005; 88: 489-498.
- Jones EL, Shingfield KJ, Kohen C, Jones AK, Lupoli B, Grandison AS, Beever DE, Williams CM, Calder PC and Yaqoob P. Chemical, physical, and sensory properties of dairy products enriched with conjugated linoleic acid. J Dairy Sci 2005; 88: 2923-2937.
- Pérez MD and Calvo M. Dairy foods. Interaction of β -Lactoglobulin with retinol and fatty acids and its role as a possible biological function for this protein: a review. J Dairy Sci 1995; 78: 978-988.
- Nudda A, McGuire MA, Battacone G and Pulina G. Seasonal variation in conjugated linoleic acid and vaccenic acid in milk fat of sheep and its transfer to cheese and ricotta. J Dairy Sci 2005; 88: 1311-1319.
- Zegarska ZA. Milk lipids. In: Chemical & Functional Properties of Food Lipids. Edited by Z.E. Sikorski, and A. Kolakowska Ed. CRC Press LLC. United States of America. 2003 pp 265-277.

Recibido:17-11-2006

Aceptado:11-07-2007

Effect of a probiotic mixed culture on texture profile and sensory performance of Minas fresh cheese in comparison with the traditional products

Flávia C. A. Buriti, Tania Y. Okazaki, João H. A. Alegro, Susana M. I. Saad

Departamento de Tecnologia Bioquímica-Farmacêutica, Faculdade de Ciências Farmacêuticas,
Universidade de São Paulo. São Paulo, SP, Brazil

SUMMARY. The effect of a mixed probiotic culture on instrumental texture, and on sensorial and related properties of Minas fresh cheese during refrigerated storage was investigated. Three cheese-making trials were prepared: T1, with the traditional type O starter culture (*Lactococcus lactis* subsp. *lactis* + *L. lactis* subsp. *cremoris*), T2 with only lactic acid and T3, with lactic acid and the probiotic ABT culture (*Lactobacillus acidophilus* La-5 + *Bifidobacterium animalis* Bb-12 + *Streptococcus thermophilus*). Instrumental texture profile analysis and related properties were monitored during storage for up to 21 days. *Lb. acidophilus* and *B. animalis* were present in high levels throughout storage of cheeses T3, above 6 log cfu.g⁻¹, threshold required for probiotic activity, and stimulation of the La-5 growth was observed. Cheeses with added probiotic ABT culture, as well as those made adding lactic acid only, showed to be less brittle and with more favorable sensorial features, due to higher pH values. Results indicated that the use of probiotic ABT culture complementary to lactic acid for the purpose of substituting the type O (*Lc. lactis* subsp. *lactis* + *Lc. lactis* subsp. *cremoris*) culture, traditionally employed for Minas cheese production, is advantageous.

Key words: Probiotics; cheese; texture profile; *Lactobacillus*; *Bifidobacterium*.

RESUMO. Efeito de uma cultura probiótica mista sobre o perfil de textura e o desempenho sensorial de queijo Minas frescal, em comparação aos produtos tradicionais. O presente trabalho investigou o efeito de uma cultura probiótica mista sobre a textura instrumental, as características sensoriais e as propriedades relacionadas de queijo Minas frescal durante seu armazenamento refrigerado. Três variáveis de elaboração de queijo Minas frescal foram estudadas: T1, empregando-se a cultura láctica mesofílica tradicional tipo O (*Lactococcus lactis* subsp. *lactis* + *L. lactis* subsp. *cremoris*), T2, produzido somente com ácido láctico e T3, empregando-se ácido láctico e a cultura probiótica ABT (*Lactobacillus acidophilus* La-5 + *Bifidobacterium animalis* Bb-12 + *Streptococcus thermophilus*). O perfil de textura instrumental e as propriedades relacionadas foram monitorados durante 21 dias de armazenamento dos queijos. As populações de *Lb. acidophilus* e de *B. animalis* estiveram elevadas durante o armazenamento do queijo T3, acima de 6 log UFC.g⁻¹, população mínima requerida para apresentar efeito probiótico, e foi observado um estímulo da multiplicação de La-5. Os queijos produzidos com a cultura probiótica ABT, assim como aqueles somente com ácido láctico, apresentaram-se menos frágeis e com atributos sensoriais mais favoráveis, devido ao pH mais elevado. Os resultados indicaram ser vantajoso o emprego da cultura probiótica ABT complementarmente ao ácido láctico para o propósito de substituição da cultura tipo O (*Lc. lactis* subsp. *lactis* + *Lc. lactis* subsp. *cremoris*), tradicionalmente empregada para a produção de queijo Minas frescal.

Palavras chave: Probióticos; queijo; perfil de textura; *Lactobacillus*; *Bifidobacterium*.

INTRODUCTION

Probiotics are presently considered 'live microorganisms administered in adequate amounts that positively affect the health of the host' (1,2). Such microorganisms may not necessarily be constant inhabitants of the GIT, but they should have a beneficial effect on the host's health status (3,4). Bacteria belonging to the genera *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* are most often used as probiotic supplements for food (5,6). Probiotic dairy foods have a high market potential. In an effort to expand the probiotic product range, a number of studies have reported on the development of several

different cheese varieties harboring probiotic microorganisms. These have included Cheddar (7), Gouda (8), Cottage (9), Crescenza (10), Festivo (11), Kefalograviera (12), Argentinean fresh cheese (13) and Minas fresh cheese (14,15).

Some probiotic mixed cultures, e.g. ABT cultures (containing *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium* and *Streptococcus thermophilus*) have been developed to bring out the preferred flavors in the products in which they are used (16,17). The introduction of cultures for direct inoculation of the cheese vat, "direct vat set" (DVS), has allowed culture producers to launch new culture blends, consisting of both thermophilic (mainly *S. thermophilus*) and mesophilic strains

(18). Additionally, strains of *Lactobacillus* spp. and of *Bifidobacterium* spp. were successfully employed as adjuncts in the production of cheese (7,14,15,19).

Minas fresh cheese is a typical Brazilian fresh cheese traditionally made using a mesophilic lactic acid starter type O culture consisting of both *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* and *Lc. lactis* subsp. *cremoris*. Nowadays, Brazilian dairies tend to substitute partially or totally, the starter culture by direct acidification with lactic acid (15). Nevertheless, the absence of starter cultures might not be microbiologically safe, since only the addition of lactic cultures assures a permanent production of lactic acid and consequently fairly low pH values of the product during storage, as well as production of other antimicrobial compounds. Addition of only lactic acid results in decrease in pH, which is restricted to the manufacturing process, as it facilitates enzymatic activity over κ -casein. However, when the idea is substituting type O lactic culture by other microorganisms, particularly by probiotic bacteria, it might be advisable to associate this practice to addition of lactic acid, as most probiotic microorganisms are able to produce enough amounts of lactic acid only some hours after the beginning of the manufacturing process.

Fresh Minas cheese offers excellent conditions for survival and growth of probiotic strains, because of high water activity, pH above 5.0, low salt content, and absence of preservatives. Nevertheless, the texture and the sensorial attributes of this food product, quality parameters that obviously reflect over acceptability by consumers, may be susceptible to undesirable changes resulting from the addition of these microorganisms during cheese production. The present study aimed to verify the viability of a mixed ABT probiotic culture and the effect of its addition on instrumental texture profile, and on sensorial and related properties of Minas fresh cheese during refrigerated storage, comparing the product with cheeses manufactured following the traditional Brazilian dairy technologies.

MATERIALS AND METHODS

Minas cheese manufacture

Three pilot-scale Minas cheese-making trials, denoted T1, T2 and T3, were performed in triplicate. Cheeses T1 were manufactured with the addition of mesophilic homofermentative type O lactic culture consisting of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* and *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* (R-704; Christian Hansen, Valinhos, Brazil). Cheeses T2 were manufactured through direct acidification with lactic acid (Purac Sínteses, Rio de Janeiro, Brazil; 0.25 mL L⁻¹ of 85% food-grade solution) and no addition of starter cultures. Cheeses T3 were prepared through acidification with lactic acid and addition of a probiotic ABT culture (ABT-4; Chr. Hansen), composed of the probiotic microorganisms *Lactobacillus acidophilus* La-5, *Bifidobacterium animalis* Bb-12 and

also of *Streptococcus thermophilus*. Minas fresh cheese was manufactured in 10 L vats from commercial pasteurized milk (CCL Paulista, São Paulo, Brazil; high temperature short time [HTST]) heated to 36-37°C, after which addition of lactic acid and/or cultures proceeded. Both cultures employed were freeze-dried commercial cultures for direct vat inoculation and they were added at 1% (w/v). Commercial rennet Estrela (85% bovine pepsin + 15% bovine chymosin, Chr. Hansen; 8 mL) and calcium chloride (2.5 g) was added to the cheese-milk in all trials. All vats were allowed to set at 36°C, until a firm curd was formed (ca. 40 min.). The gel was cut gently into cubes, allowed to drain, placed in perforated circular containers (ca. 500g capacity) and kept overnight under refrigeration for complete draining, when the product was surface-salted at 1% (w/w). The next day, cheeses were sampled for instrumental texture profile and microbiological and physico-chemical analysis of the final product, and then packaged in sealed plastic bags and stored under refrigeration (5-7°C) for up to 21 days.

Sample collection

Cheeses from each batch were used for analysis of the final product (day 1) and after 7, 14 and 21 days of storage. For cheeses T3, portions of 25 g were collected aseptically from the centre and the surface of these cheeses, for microbiological analysis. For the instrumental texture profile analysis of cheeses T1, T2 and T3, at least 0.5 cm of the rind of the each cheese was discarded, and cheese samples were carefully collected from the centre to the outer part and the rest was grated and immediately used for physico-chemical analysis. Portions of each cheese on day 1 of storage were also collected for subsequent chemical composition analysis (moisture, ash, fat, protein and carbohydrate) of the final product.

Physico-chemical analysis of cheeses

Moisture content was determined from 5 g samples by oven drying at 70°C under vacuum (Marconi MA030112, Piracicaba, Brazil) for 24h (20). Ash was determined gravimetrically by heating the 2 g sample at 550°C, until completely ashed (20). Fat was determined through extraction of lipids with ethyl ether, using the Soxhlet device (20). Protein was estimated by measuring the N content of cheeses by the Kjeldahl method and multiplying by the conversion factor 6.38 (20). Carbohydrate content was calculated by difference to achieve 100% of total contents. The pH values of cheeses were determined on duplicate samples with a pH meter Analyser Model 300M (Analyser, São Paulo, Brasil) equipped with a penetration electrode model DME-CF (Digimed, São Paulo, Brazil). Water activity (a_w) at 25°C was determined on triplicate samples using the Novasina aw-Center Instrument equipped with a three-compartment aw box (Novasina AG, Zürich, Switzerland).

Microbiological analysis of cheeses T3

Viability of *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium animalis* and of *Streptococcus thermophilus* were monitored during the storage period for probiotic cheeses T3. For this purpose, 25 g portions of duplicate cheese samples were blended with 225 mL of 0.1% peptone water in a Bag Mixer 400 (Interscience, St. Nom, France) and submitted to serial dilutions with the same diluent. *Lactobacillus acidophilus* was counted by pour-plating 1 mL of each dilution in modified DeMan-Rogosa-Sharpe (MRS) agar, prepared as a basal medium containing maltose, as described by the International Dairy Federation (21), after 3 days of aerobic incubation at 37°C. *Bifidobacterium animalis* was counted by pour-plating 1 ml of each dilution in modified DeMan-Rogosa-Sharpe (MRS) agar, prepared as a basal medium containing glucose, to which dichloxallin (Sigma, St. Louis, USA, 0,5mg/L), lithium chloride (Merck, Damstadt, Germany, 1g/L) and cistein hydrochloride (Merck, Damstadt, Germany, 0,5g/L) sterile solutions were added, after 3 days of anaerobic incubation (Anaerobic System Anaerogen, Oxoid Ltd. Basingstoke, UK) at 37°C, as described by Alegro (22). *Streptococcus thermophilus* was counted by pour-plating 1 mL of each dilution in M17 agar (Oxoid) with added lactose (Oxoid), followed by incubation at 37°C (23), for 48h.

Instrumental texture profile analysis (TPA)

Texture properties of cheeses were evaluated on replicated samples with a TA-XT2 Texture Analyser (Stable Micro Systems, Haslemere, England), using a two-bite compression of cylindrical samples of 2.4 cm of diameter and 3.0 cm of height by a flat aluminium plate (10 x 9 cm). The compression ratio employed was of 20% deformation from the initial height of the sample at a rate of 2 mm sec⁻¹. After being cut, the cheese samples were left at room temperature (25°C) for 20 min prior to testing. Parameters measured consisted of hardness, cohesiveness, adhesiveness, springiness, chewiness and gumminess, obtained by using the Texture Expert for Windows software version 1.20 (Stable Micro Systems, Haslemere, England).

Experimental design and statistical analysis

The experimental treatments and levels constituted a randomized complete block design replicated three times, with repeated measures at four time points. The treatments had a factorial structure. Analysis of variance was used to determine significant differences ($P < 0.05$) for every parameter between the different types of product and during storage, using the MINITAB™ Statistical Software 13.0 (Minitab Inc., State College, PE, USA). Differences between means were detected using the Tukey's test.

Sensory analysis

Comparison of samples containing ABT probiotic culture (T3) with the other cheese trials (T1 and T2) was also conducted by means of sensory evaluation, employing a Randomized Complete Block Design, using Preference-Ranking test. Sensory evaluation of the cheeses was carried out at the Department after 7 days of storage by 53 consumers (not trained panelists) of the Faculty, including teachers, students and staff, selected based on interest and Minas fresh cheese consuming habits. Samples of approximately 30 g were presented in white plastic dishes and the panel was asked to evaluate the three-digit coded samples of the three different types of cheese (T1, T2 and T3 - all of the same batch, 7 days after production) using a score from 1 (preferred sample) to 3 (less preferred sample) based on overall impression. They were also instructed to report any observations on sensory characteristics for the cheese samples (e.g. acid or bitter flavor, pasty or spongy or pasty texture, yellowish appearance). Panelists used water to clean their palates between samples. The sensory data were analyzed by the nonparametric Friedman's test, followed by the rank sum comparisons and of Kendall's concordance coefficient (24).

RESULTS

Composition and physico-chemical parameters of cheeses

Mean chemical compositions for the cheeses studied on day 1 of storage was very similar, and are presented in Table 1. Mean pH and water activity (a_w) values of triplicate trials during storage under refrigeration are shown in Table 2. After 7 and 14 days of storage and when all the sampling periods are considered together, mean pH values obtained for cheeses T1 were significantly lower ($P < 0.05$), due to the presence of type O lactic culture. Although ABT probiotic cheeses (T3) pH did not changed significantly during storage, these cheeses presented lower pH only on day 1 (average 5.89), probably due to the presence of *Streptococcus thermophilus*, which has the capacity of lowering the pH some time after the beginning of the manufacturing process.

After 7 days of storage, cheeses T3 mean pH values were very close to pH of cheeses manufactured with no addition of cultures (T2). A significant decrease in pH during storage was only observed for cheeses T2 after 21 days of storage ($P < 0.05$) and might be attributed to lactic acid production by lactic acid bacteria from milk natural microbiota. As for T1, the constant acidifying starter culture metabolism resulted in much lower and constantly decreasing pH values.

For all cheeses studied, the a_w values were always above 0.97 during the whole storage (Table 2). When considered together, mean T1 a_w values during storage differed significantly from T2 a_w values ($P < 0.05$). However, no significant differences in a_w mean values were detected either

between probiotic ABT cheeses T3 and the traditionally-made cheeses on each storage period or during the whole storage of these cheeses ($P>0.05$).

TABLE 1

Mean composition* of the final product of the different kinds of Minas fresh cheeses studied (T1 = type O lactic culture; T2 = lactic acid; T3 = ABT probiotic culture)

Cheeses	Moisture (%)	Ash (%)	Fat (%)	Protein (%)	Carbohydrate (%)
T1	64.74 (1.59)	1.75 (0.030)	15.45 (0.37)	11.22 (0.27)	6.84 (2.26)
T2	65.54 (1.86)	1.58 (0.016)	15.02 (0.46)	11.72 (0.67)	6.14 (2.74)
T3	64.24 (2.64)	2.10 (0.011)	15.37 (0.19)	11.54 (0.15)	6.75 (2.99)

* Mean values (with standard deviation in parenthesis)

TABLE 2

Mean values* of pH and water activity (A_w) of the different kinds of Minas fresh cheese studied (T1 = type O lactic culture; T2 = lactic acid; T3 = ABT probiotic culture) during storage under refrigeration

	Time (days)	Cheeses		
		T1	T2	T3
pH	1	6.31 ^{Aa} (0.75)	7.02 ^{Aa} (0.15)	5.89 ^{Aa} (0.26)
	7	5.63 ^{Aa} (0.20)	6.66 ^{BCab} (0.28)	6.21 ^{ACa} (0.41)
	14	5.49 ^{Aa} (0.35)	6.33 ^{Bab} (0.17)	6.49 ^{Ba} (0.12)
	21	5.25 ^{Aa} (0.30)	6.15 ^{Ab} (0.47)	6.05 ^{Aa} (0.57)
	Mean	5.67 ^A (0.45)	6.54 ^B (0.38)	6.16 ^B (0.26)
A_w	1	0.984 ^{Aa} (0.003)	0.985 ^{Aa} (0.001)	0.983 ^{Aa} (0.002)
	7	0.981 ^{Aa} (0.004)	0.986 ^{Aa} (0.003)	0.984 ^{Aa} (0.001)
	14	0.976 ^{Aa} (0.008)	0.983 ^{Aa} (0.002)	0.984 ^{Aa} (0.002)
	21	0.979 ^{Aa} (0.009)	0.983 ^{Aa} (0.007)	0.981 ^{Aa} (0.004)
	Mean	0.980 ^A (0.003)	0.984 ^B (0.001)	0.983 ^{AB} (0.001)

* Mean values (with standard deviation in parenthesis)

^{A,B} Within a row, different superscripts capital letters denote significant differences ($P<0.05$) between different trials.

^{a,b} Within a column, different lowercase superscripts letters denote significant differences ($P<0.05$) during storage for each parameter evaluated.

Viability of *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium animalis* and *Streptococcus thermophilus* in cheeses T3

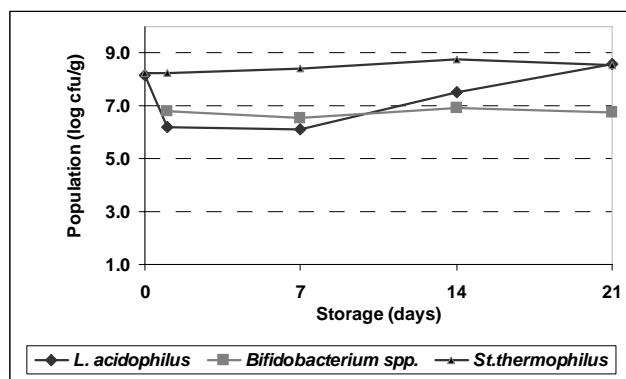
Cheese containing a probiotic culture is only considered as functional when the culture added during the manufacturing process survives maturation and does not cause damage over its composition, its texture and its sensorial features (Stanton et al.) (25). Several scientific papers propose a minimum daily dose of $10^8 - 10^9$ cfu, which corresponds to 100 g of a food product containing $10^6 - 10^7$ cfu g^{-1} per day (9,18,26).

In the present study, the probiotic microorganisms *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium animalis* present in the ABT culture employed in Minas fresh cheeses

T3 production maintained viable counts, respectively, always above 6.13 and 6.56 log cfu. g^{-1} , during the 21 days of storage of the product under refrigeration. The population of *Streptococcus thermophilus* remained above 8.27 log cfu. g^{-1} during storage (Figure 1). Interestingly, the viability of *L. acidophilus* increased in cheeses T3 after 7 days of storage (up to 8.61 log cfu. g^{-1} at 21 days of storage), whereas populations of *Bifidobacterium animalis* and of *Streptococcus thermophilus* remained more or less constant. A possible beneficial interaction (cooperation) between the strains present in the ABT culture employed in the present study might have occurred, which resulted in the stimulation of the La-5 *Lactobacillus acidophilus* strain growth.

FIGURE 1

Viability of *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium animalis* and *Streptococcus thermophilus* in Minas fresh cheese T3 (supplemented with ABT probiotic culture) during storage under refrigeration



Textural properties of cheeses during storage

Evolution of texture properties of cheeses during storage are shown in Table 3. In the present TPA study, all cheeses showed stability during storage, maintaining constant values of hardness, cohesiveness, adhesiveness, chewiness and gumminess, with no significant changes during storage ($P>0.05$). Hardness, chewiness and gumminess of cheeses manufactured with the addition of type O lactic culture (T1) were significantly lower, when compared to cheeses T2 and T3 in the 21st day of storage ($P<0.05$). The lower cheeses T1 hardness values by the end of storage came along with decreased pH, particularly after 7 days of storage (Table 2). On the other hand, for cheeses T2 and T3, the significantly higher pH values obtained during some sampling periods came along with increments in hardness values by the end of the storage period (Tables 2 and 3). Considering all mean values for each cheese, during the whole storage period, T1 was significantly different from cheeses T2 and T3 in relation to hardness, cohesiveness, chewiness and gumminess, and only from T3 in relation to adhesiveness.

TABLE 3
Texture profile analysis (TPA) of the different kinds of Minas fresh cheese studied (T1 = type O lactic culture; T2 = lactic acid; T3 = ABT probiotic culture) during storage under refrigeration

Cheeses	Time (days)	Hardness* (N)	Cohesiveness* (N)	Adhesiveness* (N*s)	Springiness* (N)	Chewiness* (N)	Gumminess* (N)
T1	1	2.51 ^{Aa} (0.39)	0.72 ^{Aa} (0.02)	-0.09 ^{Aa} (0.02)	0.88 ^{Aa} (0.04)	1.60 ^{Aa} (0.35)	1.81 ^{Aa} (0.33)
	7	2.75 ^{Aa} (0.57)	0.74 ^{Aa} (0.02)	-0.07 ^{Aa} (0.04)	0.89 ^{Aa} (0.01)	1.82 ^{Aa} (0.44)	2.05 ^{Aa} (0.48)
	14	1.84 ^{Aa} (1.15)	0.70 ^{Aa} (0.05)	-0.09 ^{Aa} (0.04)	0.90 ^{Aa} (0.02)	1.21 ^{Aa} (0.84)	1.34 ^{Aa} (0.93)
	21	1.80 ^{Aa} (0.61)	0.68 ^{Aa} (0.08)	-0.09 ^{Aa} (0.01)	0.90 ^{Aa} (0.02)	1.13 ^{Aa} (0.49)	1.26 ^{Aa} (0.55)
	Mean	2.23 ^A (0.48)	0.71 ^A (0.02)	-0.09 ^A (0.01)	0.89 ^A (0.01)	1.44 ^A (0.33)	1.61 ^A (0.38)
T2	1	2.49 ^{Aa} (0.24)	0.73 ^{Aa} (0.06)	-0.12 ^{Aa} (0.05)	0.90 ^{Aa} (0.02)	1.64 ^{Aa} (0.25)	1.82 ^{Aa} (0.32)
	7	2.48 ^{Aa} (0.44)	0.76 ^{Aa} (0.01)	-0.10 ^{ABa} (0.02)	0.91 ^{Aa} (0.01)	1.71 ^{Aa} (0.30)	1.88 ^{Aa} (0.36)
	14	3.94 ^{Aa} (0.73)	0.78 ^{Aa} (0.00)	-0.10 ^{Aa} (0.04)	0.90 ^{Aa} (0.00)	2.74 ^{Aa} (0.48)	3.05 ^{Aa} (0.55)
	21	3.94 ^{Ba} (0.35)	0.79 ^{Aa} (0.02)	-0.14 ^{Aa} (0.00)	0.90 ^{Aa} (0.01)	2.80 ^{Ba} (0.21)	3.12 ^{Ba} (0.20)
	Mean	3.21 ^B (0.84)	0.76 ^B (0.03)	-0.11 ^{AB} (0.02)	0.90 ^A (0.00)	2.22 ^B (0.64)	2.47 ^B (0.72)
T3	1	2.71 ^{Aa} (0.20)	0.75 ^{Aa} (0.01)	-0.12 ^{Aa} (0.05)	0.89 ^{Aa} (0.02)	1.81 ^{Aa} (0.17)	2.02 ^{Aa} (0.16)
	7	3.58 ^{Aa} (0.79)	0.77 ^{Aa} (0.03)	-0.16 ^{Ba} (0.04)	0.89 ^{Aa} (0.01)	2.46 ^{Aa} (0.65)	2.78 ^{Aa} (0.72)
	14	3.11 ^{Aa} (0.33)	0.78 ^{Aa} (0.02)	-0.12 ^{Aa} (0.03)	0.89 ^{Aa} (0.01)	2.16 ^{Aa} (0.19)	2.43 ^{Aa} (0.22)
	21	3.16 ^{Ba} (0.35)	0.78 ^{Aa} (0.04)	-0.13 ^{Aa} (0.02)	0.89 ^{Aa} (0.01)	2.19 ^{Ba} (0.12)	2.47 ^{Ba} (0.17)
	Mean	3.14 ^B (0.35)	0.77 ^B (0.02)	-0.13 ^B (0.02)	0.89 ^A (0.00)	2.16 ^B (0.27)	2.43 ^B (0.31)

* Mean values (with standard deviation in parenthesis)

^{A,B} Within a column, different superscripts capital letters denote significant differences ($P < 0.05$) between different trials for the same day of storage.

^{a,b} Within a column, different superscripts lowercase letters denote significant differences ($P < 0.05$) during storage for each trial.

As shown in Table 3, springiness was the only parameter for which no significant differences between cheeses T1 and the other cheeses were detected, due to very similar mean values obtained for samples of the three different kinds of cheeses studied and also during storage of each kind of cheese (always between 0.88 and 0.91). No significant differences were detected between probiotic ABT cheeses T3 and their controls cheeses T2 in any of the texture parameter evaluated ($P > 0.05$).

Even though without significant differences during storage, cheeses supplemented with the type O starter culture (cheeses T1) revealed a slight tendency in losing hardness, chewiness and gumminess after 7 days of storage, whereas non culture supplemented cheeses (T2 cheeses) revealed a slight tendency in increasing hardness, chewiness and gumminess after 7 days of storage. None of these behaviors was observed for probiotic ABT cheeses T3, which showed more constant hardness, chewiness and gumminess mean values, particularly after 7 days of storage, period that was probably required for the stability of cheese components and time that is usually needed for the cheese to reach the consumers' home.

Probiotic ABT cheeses T3 behaved very similarly to their controls – cheeses T2, in terms of textural and physico-chemical parameters during refrigerated storage. Therefore, differences in pH values along storage observed for the three types of cheeses studied, and consequently the evolution of the texture parameters, might be attributable to the presence

or not of the type O starter culture, rather than the use of ABT culture as a starter adjunct.

Sensory evaluation of cheeses

Significant differences were detected between cheeses T1 and the other two types of cheeses studied as a result of sensory evaluation ($P < 0.05$), due to preference of consumers for cheeses T2 (total score 95; 21 scores 1 and 10 scores 3) and T3 (total score 92; 21 scores 1 and 7 scores 3), particularly because of an excessively acid and slightly bitter tastes attributed to cheeses T1 (total score 131; 11 scores 1 and 36 scores 3). Therefore, as well as it was observed for differences in physico-chemical and texture parameters between the three types of cheeses studied during storage, difference in sensorial characteristics might be attributed to the presence or not of the type O starter culture, rather than the use of ABT probiotic culture as a starter adjunct.

DISCUSSION

Differences in pH may help to explain different rheological properties showed by some cheeses during compression. The maximum level of casein hydration occurs in pH values around 5.2 (27). In the present study, cheeses containing type O lactic culture (cheeses T1) revealed decreasing pH values during storage, more and more close to 5.2, reaching 5.25 after 21 days, whereas cheeses T2 and T3 presented much higher pH

values during the whole storage period (Table 2). So, higher casein hydration degree during storage, particularly after a longer storage period, might have contributed for the decrease in hardness observed for cheeses T1 during storage (Tables 2 and 3). This may happen, since the presence of more water in the protein matrix turns it less elastic and more susceptible to fracture upon the application of a stress to the cheese. This fact is attributable to the direct effect of water as plasticizer, and indirectly, by means of decrease in the concentration of casein in the cheese matrix, which displays lower elasticity and becomes easier to deform, as intra and inter-strand linkages become less numerous (27).

Behavior of cheeses T1 texture profile during storage, except in the case of springiness, and differently from what was observed for cheeses T2 and T3, revealed similar trends to those described in literature for Mozzarella and other low moisture cheeses. In these cheeses, hardness, gumminess, springiness and chewiness tend to decrease during storage (28).

In this study, texture profile of Minas fresh cheeses manufactured with the addition of a probiotic ABT culture revealed to have a greater stability in relation to the different texture parameters evaluated, during refrigerated storage for up to 21 days, when compared to texture profile of Minas fresh cheeses processed according to the traditional dairy technologies, involving addition of the type O lactic culture. The behavior of the texture profile during storage of cheeses manufactured with the addition of the type O lactic culture was closer to what is described in the literature. In spite of that, cheeses supplemented with the probiotic ABT culture, as well as those made adding lactic acid only, showed to be less brittle and with more favorable sensorial features (particularly expressed by means of higher pH values) for acceptance by consumers.

As far as the two microorganisms present in the type O lactic culture employed in the production of cheeses T1 in the present study are concerned, *Lc. lactis* subsp. *lactis* is indeed associated with the promotion of undesirable flavors, being less preferred, whereas *Lc. lactis* subsp. *cremoris* are traditionally considered as major starter culture for the production of cheese (29). Though different types of cheese are traditionally manufactured with starter cultures composed of several *Lactococcus* spp., particularly *Lc. lactis* subsp. *lactis* and *Lc. lactis* subsp. *cremoris*, substituting these cultures by probiotic cultures seems to be reasonable.

In the present study, the use of a probiotic ABT culture, composed of the probiotic microorganisms *L. acidophilus* and *B. animalis* and also of *S. thermophilus* added as a mixed culture, demonstrated to be beneficial as a co-adjutant for the manufacture of Minas fresh cheese employing acidification with lactic acid. The use of probiotic ABT culture for the purpose of substituting the type O (*Lc. lactis* subsp. *lactis* + *Lc. lactis* subsp. *cremoris*) culture, traditionally employed for

Minas cheese production, was advantageous, as the probiotic ABT Minas cheese revealed a better texture behavior during storage and also sensorial preference by consumers.

Indeed, the use of combined cultures of bifidobacteria and *L. acidophilus* or other lactic bacteria, particularly in association with *Streptococcus thermophilus* has been reported as advantageous, due to absence of certain sensory and texture defects and improvement of nutritional value of 'bifidus' products, besides increased growth rates and reduction of fermentation times (30).

CONCLUSIONS

Minas cheeses manufactured with the probiotic ABT culture, added as an adjunct starter mixed culture composed of the probiotic microorganisms *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium animalis* and also of *Streptococcus thermophilus*, in the manufacturing process involving direct acidification with lactic acid (T3), were the ones to exhibit a more constant behavior during storage in terms of texture, when compared with Minas cheeses manufactured according to the traditional and alternative procedures employed by Brazilian dairies – addition of type O starter culture (T1) and no addition of cultures, only of lactic acid (T2), respectively. No significant differences were observed between texture profiles of cheeses T2 and T3 during storage ($P > 0.05$), which showed to be less brittle and with more favorable sensorial features than T1, due to higher pH values. *L. acidophilus* and *B. animalis* were present in high levels throughout storage of cheeses T3, and stimulation of the La-5 growth was observed. Results indicated that the use of probiotic ABT culture complementary to lactic acid for the purpose of substituting the type O (*Lc. lactis* subsp. *lactis* + *Lc. lactis* subsp. *cremoris*) culture, traditionally employed for Minas cheese production, is advantageous. Further studies should be directed towards testing the Minas fresh cheese containing probiotic ABT culture potential as a functional food.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors thank Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) (Projects 00/03803-7, 00/14680-3, 00/14681-0 and 04/13597-6) and Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), for the financial support and Christian Hansen for providing the cultures employed.

REFERENCES

1. FAO/WHO. 2001. Evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria: Report of a Joint FAO/WHO Expert

- Consultation, Córdoba, Argentina. Available at: ftp://ftp.fao.org/es/esn/food/probio_report_en.pdf. Accessed 15 December 2005.
2. Sanders ME. Probiotics: considerations for human health. *Nutr Rev.* 2003; 61:91-99.
 3. Holzapfel WH, Schillinger U. Introduction to pre- and probiotics. *Food Res Int.* 2002; 35(2-3):109-16.
 4. Barrantes X, Railey D, Arias ML, Chaves C. Evaluación del efecto de cultivos probióticos adicionados a yogurt comercial, sobre poblaciones conocidas de *Listeria monocytogenes* y *Escherichia coli* O157:H7. *Arch Latinoamer Nutric.* 2004; 54(3): 293-7.
 5. Salvatierra M, Molina A, Gamboa MM, Arias ML. Evaluación del efecto de cultivos probióticos presentes en yogurt sobre *Staphylococcus aureus* y la producción de termonucleasa. *Arch Latinoamer Nutric.* 2004; 54(3):298-302.
 6. Saad SMI. Probiotics and prebiotics: the state of the art. *Braz J Pharmac Sci.* 2006; 42(1):1-16.
 7. Mc Brearty S, Ross RP, Fitzgerald GF, Collins JK, Wallace JM, Stanton C. Influence of two commercially available bifidobacteria cultures on Cheddar cheese quality. *Int Dairy J.* 2001; 11:599-610.
 8. Gomes AMP, Vieira MM, Malcata FX. Survival of probiotic microbial strains in a cheese matrix during ripening: simulation of rates of salt diffusion and microorganism survival. *J Food Engineer.* 1998; 36:281-301.
 9. Blanchette L, Roy D, Belanger G, Gauthier SF. Production of cottage cheese using dressing fermented by bifidobacteria. *J Dairy Sci.* 1996; 79:8-15.
 10. Gobetti M, Corsetti A, Smacchi E, Zocchetti A, De Angelis M. Production of Crescenza cheese by incorporation of bifidobacteria. *J Dairy Sci.* 1997; 81:37-47.
 11. Ryhänen EL, Pihlanto-Leppälä A, Pahkala E. A new type of ripened, low-fat cheese with bioactive properties. *Int Dairy J.* 2001; 11:441-7.
 12. Katsiari MC, Voutsinas LP, Kondyli E. Improvement of sensory quality of low-fat Kefalograviera-type cheese with commercial adjunct cultures. *Int Dairy J.* 2002; 12:757-64.
 13. Vinderola CG, Prosello W, Ghiberto D, Reinheimer JA. Viability of probiotic (*Bifidobacterium*, *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei*) and nonprobiotic microflora in Argentinian fresco cheese. *J Dairy Sci.* 2000; 83(9):1905-11.
 14. Buriti FCA, Rocha JS, Assis EG, Saad SMI. Probiotic potential of Minas fresh cheese prepared with the addition of *Lactobacillus paracasei*. *Lebensm -Wiss u-Technol.* 2005; 38:173-80.
 15. Buriti FCA, Rocha JS, Saad SMI. Incorporation of *Lactobacillus acidophilus* in Minas fresh cheese and its implications for textural and sensorial properties during storage. *Int Dairy J.* 2005; 15:1279-88.
 16. Svensson, U. Industrial perspectives. In: Tannock GW. *Probiotics: a critical review.* Wymondham: Horizon Scientific Press; 1999. p. 57-64.
 17. Saarela M, Mogensen G, Fondén R, Mättö J, Mattila-Sandholm T. Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties. *J. Biotechnol.* 2000; 84:197-215.
 18. Hoier E, Janzen T, Henriksen CM, Rattray F, Brockmann E, Johansen E. The production, application and action of lactic cheese starter cultures. In: Law BA, editor. *Technology of cheesemaking.* Boca Raton: CRC Press. 1999; p.99-131.
 19. Boylston TD, Vinderola CG, Ghodduzi HB, Reinheimer JA. Incorporation of bifidobacteria into cheeses: challenges and rewards. *Int. Dairy J.* 2004; 14:375-87.
 20. Instituto Adolfo Lutz. Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos químicos e físicos para análise de alimentos. 3rd. ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz; 1985.
 21. International Dairy Federation. Fermented and non-fermented milk products. Detection and enumeration of *Lactobacillus acidophilus*. Culture media. Bulletin of the IDF 306. Brussels: International Dairy Federation; 1995.
 22. Alegro JHA. Desenvolvimento de queijo Minas frescal probiótico com *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium lactis* isolados e em co-cultura [Dissertation]. São Paulo: Departamento de Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, Brasil; 2003.
 23. Richter RL, Vedamuthu ER. Milk and milk products. In: *Compendium of the methods for the microbiological examination of foods.* 4th ed. Washington: APHA; 2001. p.483-95.
 24. Lawless HT, Heymann H. *Sensory evaluation of foods: principles and practices.* Gaithersburg: Aspen; 1999.
 25. Stanton C, Gardiner G, Lynch PB, Collins JK, Fitzgerald G, Ross RP. Probiotic cheese. *Int Dairy J.* 1998; 8:491-6.
 26. Moreno Y, Collado MC, Ferrús MA, Cobo JM, Hernández E, Hernández M. Viability assessment of lactic acid bacteria in commercial dairy products stored at 4°C using LIVE/DEAD® BacLight™ staining and conventional plate counts. *Int J Food Sci Technol.* 2006; 41:275-80.
 27. Fox PF, Guinee TP, Cogan TM, McSweeney PLH. *Fundamentals of cheese science.* Gaithersburg: Aspen; 2000.
 28. Bhaskaracharya RK, Shah NP. Texture characteristics and microstructure of skim milk mozzarella cheeses made using exopolysaccharide or non-exopolysaccharide producing starter cultures. *Australian J Dairy Technol.* 2000; 55(3):132-8.
 29. Stanley G. Microbiology of fermented milk products. In: Early R, editor. *The technology of dairy products.* 2nd ed. London: Blackie Academic & Professional; 1998. p.50-80.
 30. Gomes AMP, Malcata FX. *Bifidobacterium* spp. and *Lactobacillus acidophilus*: biological, biochemical, technological and therapeutical properties relevant for use as probiotics. *Trends in Food Sci Technol.* 1999; 10:139-57.

Recibido: 25-09-2006

Aceptado: 25-06-2007

Utilización de residuos de la industria de jugos de naranja como fuente de fibra dietética en la elaboración de alimentos

Sáenz Carmen, Estévez Ana María y Sanhueza Sergio

Depto. de Agroindustria y Enología. Facultad de Ciencias Agronómicas. Universidad de Chile. Santiago, Chile

RESUMEN. En este trabajo se plantea la formulación de un alimento tipo “snack” utilizando residuos en polvo provenientes de la industria procesadora de jugo de naranja, como fuente de fibra dietética. Para ello se elaboraron 6 formulaciones, utilizando el polvo con 3 niveles de humedad (25, 15 y 10%) que se incorporó a 2 mezclas, una compuesta por un 33,3% de polvo de naranja, 33,3% de miel, 16,6% de maní tostado y molido y 16,6% de pasas molidas y otra compuesta por un 28,6% de polvo de naranja, 35,7% de miel, 17,85% de maní y 17,85% de pasas. El residuo de naranja presentó un contenido de 64% de fibra dietética total, 54% fibra dietética insoluble y 10% fibra dietética soluble. Los “snack” tuvieron forma esférica con 2,5cm de diámetro y 10g de peso; una humedad que fluctuó entre 12,6 y 17,4%, y una actividad de agua entre 0,65 a 0,71. La composición proximal (base materia seca), fluctuó entre 1,6 y 1,9% de cenizas; 12,3 y 15,2% de lípidos; 6,1 y 7,1% de proteínas y 56,2 a 59,6% de hidratos de carbono con 326,8 a 342,9 Kcal/100g de producto. El aporte de fibra en los “snack” fluctuó entre un 20 a 26% de fibra dietética total, 18 a 22% de fibra dietética insoluble y 3,0 a 4,5% de fibra dietética soluble. El “snack” con mayor contenido de polvo de naranja presentó el mayor contenido de fibra dietética. Los “snack” fueron bien aceptados por el panel de evaluación sensorial sin registrar diferencias significativas entre los distintos tratamientos.

Palabras clave: Fibra dietética, cáscara de naranja, alimentos, “snack”.

SUMMARY. Orange juice residues as dietary fiber source for foods. Food snacks using powdered residues from the orange juice industry as a source of dietary fiber were formulated. Six formulations utilizing powdered orange residues with three different moisture levels (25%, 15% and 10%) were elaborated. There were used two basic blends. The first one was 33.3% of orange dry powder, 33.3% of honey, 16.6% of roasted peanut, 16.6% of raisins; the second one was 28.6% of orange powder, 35.7% of honey, 17.85% of roasted peanut, 17.85% of raisins. Snacks had spherical shape with 2.5 cm diameter and a weight close to 10g. The snack moisture was between 12.6 and 17.4%, and their a_w between 0.65 and 0.71. The snack chemical composition, on dry matter basis, was 1.6 and 1.9% of ash; 12.3 and 15.2% of lipids; 6.1 and 7.1% of proteins; and 56.2 to 59.6% of carbohydrates; the caloric contribution (calculated) was between 326.8 and 342.9 kcal/100g. The powdered orange residue had 64% of total dietary fiber, 54% of insoluble dietary fiber and 10% of soluble dietary fiber. In the snack the fiber amount fluctuated between 20 and 26% of total dietary fiber; 18 and 22% of insoluble dietary fiber, and 3.0 and 4.5% of soluble dietary fiber. The snack with the higher content of orange residue presented the higher content of dietary fiber. The snacks were well accepted by a sensory panel, without showing differences among treatments.

Key words: Dietary fiber, orange peel, snack food.

INTRODUCCION

Los alimentos tipo “snack” corresponden a una amplia gama de productos fáciles de manipular, que constituyen porciones individuales, no requieren preparación y satisfacen el apetito en corto plazo (1). Su consumo ha aumentado debido a los cambios de hábitos alimenticios en la población consecuencia, entre otros, de la extensión de la jornada laboral, las mayores distancias de desplazamiento entre el hogar y el trabajo y la mayor cantidad de tiempo que la gente permanece sola en sitios públicos. A esto se suma la búsqueda de una alimentación más saludable, que aporte vitaminas, fibra dietética y bajo contenido de colesterol (2,3). Entre los diversos tipos de “snack” existentes en el mercado se encuentran barras energéticas con o sin chocolate, granolas, barras de frutas, etc., que pueden llevar incorporado o aportar por sí mismas, altos contenidos de fibra dietética, proteínas, minerales y vitaminas (1).

Las recomendaciones, constantes, de aumentar el consumo de fibra dietética (28-35g/día), por sus claros beneficios en la salud, han llevado a buscar nuevas fuentes de este componente o a diseñar nuevos alimentos que con una mayor aceptación, contribuyan a aumentar la ingesta diaria recomendada de fibra dietética (4).

Entre las fuentes de fibra dietética que se pueden utilizar, se encuentra la proveniente de los residuos de la industria elaboradora de jugo de naranja (5). Cerca de un 50% de la naranja lo constituyen partes diferentes al jugo (6) que contienen cantidades variables de fibra dietética (7,8). Estas pueden ser deshidratadas para su conservación y posterior uso (9,10), permitiendo aprovechar características de interés como, un bajo contenido de lípidos e hidratos de carbono asimilables, un alto contenido de fibra dietética, un bajo aporte calórico (11,12), así como una interesante capacidad de mantener la humedad de los alimentos a los que se incorpora y reducir el contenido de grasas y calorías (4,13).

La presente investigación tuvo como objetivo estudiar la incorporación de residuos de naranja en polvo, en combinación con otros ingredientes como maní tostado, pasas y miel de abeja, en la formulación de alimentos tipo “snack”, ofreciendo un producto rico en fibra dietética y de adecuado aporte energético.

MATERIALES Y METODOS

Se utilizó residuos de naranjas de la variedad Valencia provenientes de una industria procesadora de jugo perteneciente a la Sociedad Agrícola La Rosa SOFRUCO, ubicada en la comuna de Peumo (VI Región de Chile). Dicha industria utiliza extractores FMC (FMC Corp.) que separan el jugo de naranja del residuo, compuesto de semillas, cáscara, albedo, aceites esenciales y membranas carpelares (14). Se utilizó además, para formular el “snack”, miel de abeja, maní tostado y pasas corinto, que fueron obtenidas en el comercio establecido.

Preparación del polvo de naranja

El residuo de naranja se escaldó (80°C por 5 minutos), a fin de disminuir el contenido de los compuestos que confieren amargor (6, 9); enfrió con agua (20°C por 3 minutos) y se deshidrató a 60°C en un túnel de aire forzado (2,0 m/s), dejando los residuos con 3 contenidos de humedad, próximos a 25%, 15% y 10%. Las semillas se separaron en forma manual, se redujo el tamaño en un molino experimental Arthur H. Thomas Co. (malla número 60) hasta una granulometría entre 500 a 600µm y se envasó en frascos de vidrio de 500g, almacenándolo en lugar oscuro y seco, hasta su uso.

Formulación y elaboración del “snack”

Se elaboraron 6 formulaciones tipo “snack”. Las variables consideradas fueron: 3 niveles de humedad del polvo de naranja (10, 15 y 25%) y 2 niveles de inclusión de polvo de naranja en el snack: 33,3% (snack 1) y 28,6% (snack 2). La formulación se elaboró, además, con miel, maní y pasas corinto; dependiendo del nivel de inclusión del polvo de naranja, se incorporó la miel: 33,3 ó 35,7%; pasas corinto picadas: 16,6 ó 17,85% y maní tostado molido: 16,6 ó 17,85%. Los “snack” se formularon como esferas de 2,5 cm diámetro y un peso de 10g.

Análisis químicos y físicos del polvo de naranja y del “snack”

Tanto al polvo de naranja, de diferente contenido de humedad, como a los “snack” se les determinó: fibra total, soluble e insoluble, usando el método de Lee *et al.* (15); proteínas mediante el método de microKjeldahl (16); humedad, en el polvo de naranja, por secado en una estufa a 105°C a presión atmosférica y en los “snack” por secado en estufa con vacío a 70°C (16); cenizas, mediante calcinación en mufla a 550°C

(16); lípidos, por extracción con éter petróleo en un equipo Soxhlet (16); hidratos de carbono totales, por diferencia; calorías: se determinó utilizando los coeficientes de Atwater: 4,0 kcal/g para las proteínas, 4,0 kcal/g para hidratos de carbono y 9,0 kcal/g para los lípidos (17,18); actividad de agua: mediante un equipo Aw-wert/messer marca Lufft, modelo 5803 (19); diámetro ecuatorial y peso del “snack”, utilizando un pie de metro y una balanza digital marca Sartorius, respectivamente.

Análisis sensorial de los “snack”

Se determinó aceptabilidad de los “snack” (24 horas después de elaborados), aplicando el método de la Escala Hedónica con una pauta no estructurada de 15 cm y un panel compuesto por 24 evaluadores (hombres y mujeres de entre 22 y 60 años, de diversos estratos socioeconómicos). Los atributos de calidad (apariencia, textura y sabor, dulzor, acidez, amargor y aroma), los determinó un panel de 12 evaluadores entrenados, utilizando el método descriptivo, con una escala no estructurada de 15 cm.

Diseño experimental y análisis estadístico

Se utilizó un diseño experimental factorial (3x2) completamente al azar, siendo los factores los niveles de humedad en el polvo de naranja (25%, 15% y 10%) y su inclusión en el “snack” (33,3 y 28,6%); cada tratamiento se efectuó con tres repeticiones. La evaluación sensorial de los “snack” se realizó con un diseño de bloques completamente al azar. Los resultados químicos, físicos y sensoriales se analizaron estadísticamente por ANDEVA, aplicando la Prueba de Rango Múltiple de Duncan, en el caso de existir diferencias significativas entre las muestras.

RESULTADOS

El polvo de naranja presentó una composición química (base materia seca) de 2,8%±0,1 de cenizas; 0,9%±0,1 de lípidos; 6,7%±0,2 de proteínas y 26,2% de hidratos de carbono disponibles. El contenido de fibra dietética total (FDT) del residuo de naranja (base materia seca) fue de 63,4%±1,6, correspondiendo un 10,0%±0,4 a fibra dietética soluble (FDS) y un 53,4%±1,1 a fibra dietética insoluble (FDI), con una relación FDI/FDS = 5,34:1.

La granulometría del polvo se encontró entre 500 y 600µm. La actividad de agua (a_w) registró, en el residuo de naranja con 10 y 15% de humedad, valores de 0,56±0,1 y 0,75±0,1 respectivamente. La a_w del polvo con 25% de humedad fue de 0,81±0,1.

Características físicas y químicas de los “snack”

Los “snack” presentaron una actividad de agua (a_w) promedio de 0,67 (Tabla 1).

El contenido de cenizas promedio de los “snack” con 10% de humedad fue 1,9 g/100g m.s.; siendo 1,6% g/100g m.s. en los snack de 25% de humedad y de 1,7% g/100g m.s. en los de 15% de humedad.

TABLA 1
Actividad de agua (Aw) y humedad de los “snack” de acuerdo a los niveles de humedad del residuo de naranja y formulación

Humedad del residuo	Snack 1 ¹ Actividad de agua	Snack 2 ² Actividad de agua	Snack 1 ¹ Humedad (g/100g de producto)	Snack 2 ² Humedad (g/100g de producto)
25 %	0,71 ± 0,3aA	0,69 ± 0,2aA	17,4 ± 0,2 a A	16,5 ± 0,3 a B
15 %	0,66 ± 0,2bB	0,67 ± 0,2bB	14,1 ± 0,2 b A	14,0 ± 0,1 b A
10 %	0,65 ± 0,1bB	0,65 ± 0,1bB	12,6 ± 0,1 c A	12,8 ± 0,2 c A

Letras distintas indican diferencia significativa del 5%. Letras minúsculas se comparan verticalmente. Letras mayúsculas comparan horizontalmente.
¹Polvo naranja: 33,3%; miel: 33,3%; maní: 16,6%. ²Polvo naranja: 28,6%; miel: 35,7%; maní: 17,85%

El contenido de lípidos de los “snack” presentó diferencias significativas, de acuerdo a la humedad del polvo de naranja y formulación (Tabla 2), encontrándose valores entre 12,3 y 14,3 g/100g m.s. para los “snack” 1 y entre 13,1 y 15,2 g/100g m.s. para los “snack” 2, dependiendo del contenido de humedad del residuo de naranja. Algo similar se observó en el contenido de proteínas de los “snack” (Tabla 2), variando entre 6,1 y 6,9 g/100g m.s. para los “snack” 1 y entre 6,4 y 7,1 g/100g m.s., para los “snack” 2, encontrándose diferen-

cias significativas dependiendo de la humedad del polvo de naranja utilizado en la formulación.

TABLA 2
Lípidos y proteínas de los “snack” de acuerdo a los niveles de humedad del residuo de naranja y formulación

Humedad del residuo	Snack 1 ¹ Lípidos (g/100g m.s.)	Snack 2 ² Lípidos (g/100g m.s.)	Snack 1 ¹ Proteínas (g/100g m.s.)	Snack 2 ² Proteínas (g/100g m.s.)
25 %	14,3 ± 0,4Aa	15,2 ± 0,4Ba	6,1 ± 0,1Aa	6,4 ± 0,1Ba
15 %	12,8 ± 0,4Ab	13,2 ± 0,7Bb	6,5 ± 0,1Ab	7,0 ± 0,2Bb
10 %	12,3 ± 0,5Ab	13,1 ± 0,3Bb	6,9 ± 0,2Ab	7,1 ± 0,2Bb

Letras distintas indican diferencia significativa del 5%. Letras minúsculas se comparan verticalmente. Letras mayúsculas comparan horizontalmente.
¹Polvo naranja: 33,3%; miel: 33,3%; maní: 16,6%. ²Polvo naranja: 28,6%; miel: 35,7%; maní: 17,85%

Los “snack” presentaron diferencias significativas en su contenido de fibra dietética (Tabla 3), el que disminuyó al utilizar polvo de naranja con mayor humedad, existiendo diferencia en los distintos niveles de humedad. El contenido de fibra dietética soluble de los “snack” (Tabla 3), presentó diferencias significativas entre formulaciones, presentando el “snack” 1 un mayor contenido de fibra dietética soluble. El contenido de fibra dietética insoluble de los “snack” presentó diferencias debido tanto a la humedad del polvo como a la formulación (Tabla 3). Las formulaciones “snack” 1 presentaron un mayor contenido de fibra dietética insoluble.

TABLA 3
Fibra dietética de los “snack” de acuerdo a los niveles de humedad del residuo de naranja y a la formulación

Humedad del residuo	Snack 1 ¹ Fibra Total (g/100g m.s.)	Snack 2 ² Fibra Total (g/100g m.s.)	Snack 1 ¹ Fibra soluble (g/100g m.s.)	Snack 2 ² Fibra soluble (g/100g m.s.)	Snack 1 ¹ Fibra insoluble (g/100g m.s.)	Snack 2 ² Fibra insoluble (g/100g m.s.)
25 %	20,4 ± 0,8c	17,3 ± 0,6c	3,0 ± 0,2aA	2,6 ± 0,3aB	17,4 ± 0,4 bA	14,7 ± 0,5 bB
15 %	21,0 ± 0,6b	19,5 ± 1,1b	3,6 ± 0,1aA	2,5 ± 0,3aB	17,5 ± 0,4 bA	17,0 ± 0,5 bB
10 %	22,8 ± 0,8a	20,9 ± 0,7a	3,7 ± 0,2aA	3,1 ± 0,2aB	19,1 ± 0,4 aA	17,8 ± 0,7 aB

Letras distintas indican diferencia significativa del 5%. Letras minúsculas se comparan verticalmente. Letras mayúsculas se comparan horizontalmente

¹ Polvo naranja: 33,3%; miel: 33,3%; maní: 16,6%. ² Polvo naranja: 28,6%; miel: 35,7%; maní: 17,85%

Aporte calórico

El aporte calórico de los “snacks” fluctuó entre 329,8 y 339,4 kcal/100g para el snack 1 y 2 respectivamente. En la Tabla 4 se presenta la información nutricional de la mejor formulación de snack que correspondió a aquella con 33,3% de inclusión de polvo de naranja y un nivel de 10% de humedad del mismo.

Características sensoriales de los “snack”

Los “snack” no registraron, entre tratamientos, diferencias significativas en sus características sensoriales de calidad.

La acidez fluctuó entre 6,2 y 7,0 (lo que equivale a “levemente suave”); el dulzor entre 6,9 y 7,8, con intensidades equivalentes a “levemente suave” para el “snack” 1 (polvo de naranja 25% humedad) y a “normal” para los demás. El aroma

presentó valores de 6,9 a 7,7 obteniendo intensidades equivalentes a “levemente suave” en el “snack” 2 (polvo de naranja 25% humedad) y a “normal” en los demás. El sabor fluctuó entre 8 y 9 y el amargor presentó intensidades equivalentes a “normal” y a “levemente alto” en el “snack” 1 (polvo de naranja 15% humedad) y el “snack” 2 (polvo de naranja 10% humedad). La textura fue calificada entre 7 y 8, lo que equivale a “regular”, sin embargo, la formulación 2 con polvo de naranja con 25% de humedad, obtuvo una textura equivalente a “mas que regular”. La apariencia en los “snack” 1 y 2 (polvo de naranja 15% humedad) fue equivalente a “regular” y a “mas que regular” en los demás.

Respecto a la aceptabilidad, los valores se observan en la Tabla 5, existiendo diferencias significativas entre tratamientos; el “snack” 2 con residuo de naranja de 25% de humedad es significativamente más aceptado que el “snack” 1 con polvo de naranja con humedades de 25 y 15%.

TABLA 4
Información nutricional de la mejor formulación de “snack” por 100g de producto

Formulación	Snack 1
Humedad residuo de naranja (%)	10
Energía (Kcal/100g)	330
Energía (Kcal/30g)	99
Humedad, g	13
Proteínas, g	6
Lípidos, g	11
Cenizas, g	2
Hidratos de carbono, g	49
Fibra dietética total, g	20
Fibra soluble, g	3
Fibra insoluble, g	17

TABLA 5
Aceptabilidad de los “snack” de acuerdo a los niveles de humedad del residuo de naranja y formulación

Humedad del residuo de naranja (%) / formulación “snack” 1 ¹ o 2 ²	Aceptabilidad
25/1	8,5±2.6 b
25/2	10,1±2.2 a
15/1	8,2±2.2 b
15/2	9,7±2.2 ab
10/1	9,2±3.2 ab
10/2	8,8±2.1 ab

Tabla de puntuación: (0-6,99 rechazo) (7-7,99 indiferencia) (8-15 aceptado). Letras distintas indican diferencia significativa del 5%.

¹Polvo naranja: 33,3%; miel: 33,3%; maní: 16,6%. ²Polvo naranja: 28,6%; miel: 35,7%; maní: 17,85%

DISCUSION

Los valores de composición química del polvo de residuo de naranja estudiado concuerdan con lo señalado por Larrauri *et al.* (11), quienes informan una composición proximal en fibra de cítricos de 3% de cenizas, 0,75% de lípidos, 5% de proteínas, 65% en fibra dietética y 26,25% de hidratos de carbono disponibles; por su parte Tamayo y Bermúdez (9) obtuvieron, en residuo de naranja Valencia, 2,5% de cenizas, 0,6% de lípidos y 6% de proteínas, 79% de fibra dietética total y 11,9% de hidratos de carbono disponibles; y Rincón *et al.* (12) en harinas de cáscaras de naranja encontraron 4,86% de cenizas, 5,07% de proteínas y 1,64% de lípidos. Larrauri *et al.* (11) obtuvieron 19,5% de FDS; 45,5% de FDI y 65% FDT en cáscaras de cítrico. Figuerola *et al.* (20) encontraron en cáscara de naranja variedad Valencia 64,3±0.30 de FDT, 54,0±0,23 de FDI y 10,28 ±0.30 de FDS. Tamayo y Bermúdez (9) obtuvieron mayores valores en residuos de naranja Valencia (34% de FDS, 45% de FDI), este residuo incluía la cáscara, el albedo y los sacos de jugo. El menor contenido de fibra dietética soluble obtenido en el presente estudio, se puede atribuir a la etapa fisiológica en que se encontraba el vegetal, ya que el contenido de los diferentes compuestos en los cítricos se ve modificado durante su período de desarrollo y condiciones de crecimiento (7). Por su parte Rincón *et al.* (12) indican que en cáscara de naranja el contenido de FDT (base húmeda) fue de 49,78%, correspondiendo a FDI un 48% y a FDS 1,77%. El contenido de fibra dietética del residuo de naranja en polvo es comparable al de productos tradicionalmente considerados aportadores de fibra dietética, como el salvado de soja que posee 72,1% de FDT; 7,4% de FDS y 64,7% de FDI y el “High-fiber cereal” con un 34,3% de FDT; 2,9% de FDS y 31,4% de FDI (15). El polvo de residuo de naranja, por su contenido de fibra dietética total, buena relación FDI/FDS (5,34:1) y bajo contenido calórico (179,7 Kcal/100g), puede considerarse, de acuerdo a Larrauri (21), como una buena fuente de fibra para incorporarse a alimentos.

La granulometría del polvo (500-600µm), permite una mayor capacidad de absorción de agua y lípidos, que partículas de menor tamaño (9). Esto posibilita que el residuo de naranja produzca un aumento de volumen en el proceso digestivo como consecuencia de la mayor absorción de agua, generando una sensación de saciedad y permitiendo un mejor efecto de las propiedades beneficiosas de la fibra dietética soluble e insoluble (21).

La actividad de agua (a_w) registrada en el residuo de naranja con 10 y 15% de humedad, permitiría el desarrollo de bacterias halófilas, mohos y levaduras osmófilas, siendo 0,56±0,1 y 0,75±0,1 respectivamente; no obstante la a_w del polvo con 25% de humedad (0,81±0,1), podría permitir el desarrollo de bacterias patógenas como *Staphylococcus aureus*

(23), lo que debería tenerse en cuenta para las condiciones de conservación.

Características físicas y químicas de los “snack”

La actividad de agua promedio de los “snack” fue de 0,67, valores que evitarían en gran medida el desarrollo de microorganismos patógenos (23), existió diferencias significativas entre los tratamientos debido a las diferentes humedades del residuo de naranja (Tabla 1).

Respecto a las características químicas, el contenido de humedad de los “snack” fue, como era de esperar, significativamente diferente dependiendo de la humedad del polvo utilizado (Tabla 1) y de su nivel de incorporación.

El contenido de cenizas de los “snack” con 10% de humedad, fue significativamente mayor que los otros tratamientos (1,9 g/100g m.s.), debido probablemente a la mayor concentración de los otros componentes de la mezcla en los productos más secos.

El contenido de lípidos de los “snack” presentó diferencias significativas, de acuerdo a la humedad del polvo de naranja y formulación (Tabla 2). El residuo de naranja posee un contenido de lípidos muy reducido, siendo el maní el principal responsable del nivel de lípidos de la mezcla. Lo mismo se observó con el contenido de proteínas de los “snack” (Tabla 2). Debido al aporte de proteínas de maní en la mezcla, el “snack” 2 presentó un contenido más alto. Los “snack” elaborados con polvo de naranja de 25% de humedad, poseen menos proteínas.

La fibra dietética determinada en los “snack”, como era de esperar, fue de alrededor de un tercio del contenido del residuo de naranja, ingrediente que aporta en mayor proporción este elemento. Los “snack” presentaron diferencias significativas en su contenido de fibra dietética (Tabla 3), el que disminuyó al utilizar polvo de naranja con mayor humedad, existiendo diferencia en los distintos niveles de humedad. Los contenidos de fibra dietética de los “snack” fueron cercanos al de productos utilizados como fuente de fibra dietética, como el salvado de avena con 18,25g/100g m.s. (15) y son mayores a algunos productos enriquecidos en fibra dietética elaborados en Chile como “muffins” con 6.3g/100g m.s., pan con 13g/100g m.s y otros (24). El contenido de fibra dietética soluble de los “snack” (Tabla 3), presentó diferencias significativas entre formulaciones, presentando el “snack” 1 un mayor contenido de fibra dietética soluble, debido a la mayor proporción de polvo de naranja que posee. El contenido de fibra dietética insoluble de los “snack” presentó diferencias debido tanto a la humedad del polvo como a la formulación (Tabla 3). Las formulaciones “snack” 1 presentan un mayor contenido de fibra dietética insoluble, debido a la mayor proporción de residuo de naranja en la mezcla.

Considerando que los requerimientos diarios de fibra dietética están estimados en 28g/día para las mujeres y 35 g/día

para los hombres (4) y de acuerdo a la composición nutricional de los “snack” (Tabla 4), una porción de 3 unidades (30g) aporta entre 4,3 a 6g de fibra dietética, dependiendo de la formulación, correspondiendo entre un 21,5 y 30% de las necesidades diarias de fibra dietética.

Aporte calórico

El aporte calórico de los “snacks” fluctuó entre 329,8 y 339,4 kcal/100g para el snack 1 y 2 respectivamente; la formulación 2 presentó un mayor aporte calórico debido a su mayor contenido de maní, el cual presenta un importante contenido de lípidos. El aporte calórico de los “snack” fue menor al que presentan barras tipo “snack” elaboradas con cereales y maní (25) con valores entre 441 y 445 kcal/100g y menor que el de galletas comerciales ricas en fibra (30% de salvado de trigo) con 393 kcal/100g (26).

Características sensoriales de los “snack”

Los “snack” no registraron, entre tratamientos, diferencias significativas en sus características sensoriales de calidad.

Respecto a la aceptabilidad, los valores se observan en la Tabla 5, existiendo diferencias significativas entre tratamientos; el “snack” 2 con residuo de naranja de 25% de humedad es significativamente más aceptado que el “snack” 1 con polvo de naranja con humedades de 25 y 15%, esto se puede atribuir al mayor contenido de miel y maní de la formulación 2, que mejoran sus características sensoriales. Cabe resaltar que la miel es un edulcorante natural, no refinado y que la presencia de frutos tipo nuez, como el maní, es un punto atractivo para los consumidores, por su composición lipídica.

Se puede concluir que los “snack” elaborados con polvo de naranja, constituyen una buena fuente de fibra dietética total (soluble e insoluble). La mejor formulación correspondió a la muestra con 33,3% de inclusión de polvo de residuo de naranja de 10% de humedad, debido a que presentó el mayor contenido de fibra dietética total (soluble e insoluble), un adecuado aporte calórico, una a_w que permite su conservación y una buena aceptabilidad sensorial.

REFERENCIAS

1. Lusas EW, Rooney LW. Snack food processing. 2001. CRC Press, London.
2. Sáenz C, Gasque F. Jugos y néctares. Legislación y calidad en Chile. *Indu Alim.* 1999; 3:12-15.
3. Sloan E. Top 10 Global Trends. *Food Tech.* 2005; 59 (4):20-32
4. Pszczola D. Fiber gets a new image. *Food Tech.* 2006; 60 (2):43-53
5. Fernández M, Rodríguez J. Tecnología para la obtención de fibra dietética a partir de materias primas regionales. La experiencia en Cuba. p. 211-236. In: Lajolo, F., Saura-Calixto, F., Witting De Pena, E., Wenzel De Menezes, E. Fibra dietética

- en Iberoamérica tecnología y salud. Obtención, caracterización, efecto fisiológico y aplicación en alimentos. Proyecto Cyted XI.6. "Obtención y caracterización de fibra dietética para su aplicación en alimentos para regímenes especiales". Ed. Varela. Sao Paulo, Brasil. 2001; 469p.
6. Braddock RJ. By-products of citrus fruit. Food Tech. 1995; 49 (9):74, 76-77.
 7. McCready R. Carbohydrates: Composition, Distribution, Significance. Chapter 3. p 74-109. In: NAGY, S., SHAW, P., VELDHUIS, M. (ed). Citrus Science and Technology Vol 1. Ed. The Avi Publishing Company. Connecticut. E.U.A. 1977; 531p.
 8. Widmer WW. Dietary Fiber and Other Products from Complex Carbohydrates in Citrus Processing Waste. Annual Meeting of the Institute of Food Technologists. 2003; p. 46. Abstract No. 19-6.
 9. Tamayo Y, Bermúdez A. Los residuos vegetales de la naranja como fuente de fibra dietética. p. 181-189. In: LAJOLO, F., WENZEL DE MENEZES, E. (eds). Fibra dietética. Vol. 2. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo, México D.F. 1998; 286 p.
 10. Larrauri J. Procesos para la obtención de productos en polvo con altos contenidos de fibra dietética. Alimentos. 1994; 19 (3): 25-30.
 11. Larrauri J, Rodríguez J, Fernández M, Borroto B. Nota: Fibra dietética obtenida a partir de hollejos de cítrico y cáscaras de piñas. Rev. Esp. Cienc Tecnol Aliment. 1994; 34 (1): 102-107.
 12. Rincón A, Vásquez AM, Padilla C. Composición química y compuestos bioactivos de harina de cáscara de las harinas de cáscaras de naranja (*Citrus sinensis*), mandarina (*Citrus reticulata*) y toronja (*Citrus paradisi*) cultivadas en Venezuela. Arch Latinoamer Nutr. 2005; 55 (3):305-310.
 13. FIBERSTAR, INC. CITRI-FI™ <http://www.fiberstar.net/products>. 2006; html. Consulta: 12 de abril de 2006.
 14. SOFRUCO. Sofruco Jugos. 2006. <http://www.sofruco.com>. Consulta 12 de abril de 2006.
 15. Lee S, Prosky L, De Vries J. Determination of total, soluble, and insoluble dietary fiber in food -enzymatic- gravimetric method, MES-TRIS buffer: collaborative study. J AOAC Int. 1992; 75 (3): 395-416.
 16. Association Of Official Analytical Chemist (A.O.A.C.) Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemist. Ed. Sydney Williams 14 th ed. Arlington, Virginia, E.U.A. 1984; 1141p.
 17. Tagle M. Nutrición. Ed. Universitaria. Santiago Chile. 1980; 231p
 18. Nelson, A. High-fiber ingredients. Eagan Press Handbook series. Eagan press St. Paul Minnesota. 2001; p.88.
 19. Sepúlveda E. Manual de trabajos prácticos de análisis de alimentos. Publicación docente N° 4. Universidad de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales. Departamento de Agroindustria y Tecnología de Alimentos. Santiago, Chile. 1998. 51p
 20. Figuerola F, Hurtado ML, Estevez AM, Chiffelle I, Asenjo F. Fibre concentrates from apple pomace and citrus peel as potential fibre sources for food enrichment. Food Chem. 2005; 91: 395-401.
 21. Larrauri J. New approaches in the preparation of high dietary fibre powders from fruit by-products. Trends Food. Sci Tech. 1999; 10:3-8.
 22. Olson A, Gregory G, Mei-chen C. Chemistry and analysis of soluble dietary fiber. Food Tech. 1987; 42 (2): 71-80.
 23. Fennema O. Química de los alimentos. Ed. Acribia S.A. Zaragoza, España. 1993; 1095p
 24. Wittig De Pena E. Elaboración de productos alimenticios con fibra. La experiencia en Chile. p. 255-262. In: Lajolo, F., Saura-Calixto, F., Witting De Pena, E., Wenzel De Menezes, E. (eds.) Fibra dietética en Iberoamérica, tecnología y salud. Obtención, caracterización, efecto fisiológico y aplicación en alimentos. Proyecto Cyted XI.6. "Obtención y caracterización de fibra dietética para su aplicación en alimentos para regímenes especiales". Ed. Varela. Sao Paulo, Brasil. 2001; 469p.
 25. Escobar B, Estévez AM, Vásquez M, Castillo E, Araya E. Aporte calórico-proteico de barras tipo snack elaboradas con cereales y maní. Alimentos 1992; 17 (3): 5-10.
 26. Nutriguia. Guías de Nutrición y Salud. 2003; <http://www.nutriguia.com> Consultada: 14-junio-2006.

Recibido: 01-03-2007

Aceptado: 07-06-2007

Aceleración de la deshidratación osmótica de frambuesas (*Rubus idaeus*) por medio de calentamiento óhmico

Ricardo Simpson R., Maite Jiménez P., Erica Carevic G. y Romina Grancelli M.

Universidad Técnica Federico Santa María, Universidad Católica de Valparaíso. Valparaíso, Chile

RESUMEN. Frambuesas (*Rubus idaeus*) se deshidrataron osmóticamente a través de un tratamiento convencional bajo el supuesto de solución homogénea, utilizando como medio una solución de glucosa al 62% a una temperatura de 50°C. También se deshidrataron osmóticamente por medio de calentamiento óhmico, utilizando como medio una solución de glucosa al 57%, con voltaje variable (para mantener una temperatura entre 40-50°C) y una intensidad del campo eléctrico <100 V/cm. Al comparar los resultados se observa una evidente disminución en el tiempo de proceso al utilizar el calentamiento óhmico. En algunos casos, ésta reducción alcanzó hasta un 50%. Esto se explica por el efecto adicional al daño térmico que se genera en un proceso óhmico, denominado electroporación. **Palabras clave:** Deshidratación osmótica, calentamiento óhmico, procesos combinados.

INTRODUCCION

En estos últimos tiempos se ha desarrollado una gran diversidad de métodos de conservación de alimentos, incluso algunos con aplicación industrial. Por ejemplo, en la actualidad hay muchas plantas (más de 50) para el procesamiento óhmico de alimentos.

Los métodos convencionales no son suficientes, dado los efectos indeseables en los productos. Por ejemplo, causan deterioro de los atributos sensoriales, tales como, color, olor, textura, sabor, etc. y también una importante degradación de las propiedades nutricionales. En la actualidad existe una presión creciente por parte de los consumidores a favorecer productos "frescos".

Esta presión de los consumidores se ha traducido en una mayor demanda por alimentos mínimamente procesados, inocuos, con apariencia fresca y con un alto valor nutricional. Para cumplir con este objetivo se han desarrollado nuevas técnicas para el procesamiento de alimentos, y entre éstas destaca el calentamiento óhmico.

El calentamiento óhmico es un proceso térmico en el cual el calor es generado internamente en el alimento, el cual actúa como resistencia al paso de corriente eléctrica alterna (CA). Además del aumento de temperatura en el producto se producen cambios en la estructura celular, puntualmente sobre el tejido de la membrana plasmática, variando su permeabilidad en distintos grados (fenómeno conocido como

SUMMARY. Acceleration of osmotic dehydration process through ohmic heating of foods: raspberries (*Rubus idaeus*). Raspberries (*Rubus idaeus*) were osmotically dehydrated by applying a conventional method under the supposition of a homogeneous solution, all in a 62% glucose solution at 50°C. Raspberries (*Rubus idaeus*) were also osmotically dehydrated by using ohmic heating in a 57% glucose solution at a variable voltage (to maintain temperature between 40 and 50°C) and an electric field intensity <100 V/cm. When comparing the results from both experiments it was evident that processing time is reduced when ohmic heating technique was used. In some cases this reduction reached even 50%. This is explained by the additional effect to the thermal damage that is generated in an ohmic process, denominated electroporation.

Key words: Osmotic dehydration, ohmic heating, hurdles technology.

electroporación). Estos cambios se logran principalmente variando la intensidad del campo eléctrico aplicado (lo cual se puede lograr variando el voltaje). Intensidades de campos eléctricos altos (10^4 - 10^5 V/cm) proporcionan una oportunidad en experimentos de inactivación microbiana (1). Estos son los rangos utilizados en los tratamientos de PEF (pulsed electric field). Utilizando altos valores de E (donde E es la intensidad del campo eléctrico) se puede lograr una permeabilización de la estructura celular. Campos eléctricos con intensidades bajo los 100 V/cm son utilizados generalmente en calentamiento óhmico, permiten un aumento del rendimiento en procesos de extracción y secado en diferentes alimentos (2-4). En este rango de valores la permeabilización de la membrana es reversible.

Debido a la electroporación y la desnaturalización de las membranas a causa del proceso térmico presente, ocurre otro fenómeno llamado electroplasmólisis o también electropermeabilización.

El mecanismo más aceptado de electropermeabilización de membranas biológicas es la formación y la generación de poros con el consiguiente intercambio molecular y el desbalance del equilibrio osmótico natural entre volúmenes intracelulares y extracelulares (5,6).

La electroplasmólisis de tejidos de verduras aumenta la conductividad eléctrica, difusividad, coeficientes de transferencia de calor y de masa. Esto disminuye la compresibilidad y la fuerza de los tejidos biológicos. Estos

efectos de electropermeabilización son explotados en el desarrollo de nuevas elaboraciones (7).

El calentamiento óhmico ha sido estudiado por largo tiempo, principalmente como método de esterilización o pasteurización. Desde finales de la década de los 90's han surgido nuevas publicaciones enfocadas a la utilización del calentamiento óhmico en otras aplicaciones, basándose en el efecto generado en el tejido celular del alimento. Lima y Sastry (8), y posteriormente Wang y Sastry (9), encontraron un aumento en el porcentaje de extracción de jugo en manzanas utilizando el calentamiento óhmico como un pretratamiento. Resultados similares fueron encontrados en secado con aire caliente (2). Además notaron que el jugo extraído de muestras pretratadas, con calentamiento óhmico, no presentan diferencias en color o claridad en comparación al producido a partir de muestras crudas, esto se diferencia de los resultados obtenidos con tratamientos térmicos convencionales, los cuales debido a las altas temperaturas generalmente causan pardeamiento y cambios en el sabor del producto (10). Realizando pruebas similares y utilizando una intensidad de campo eléctrico menor a 100 V/cm, fueron capaces de identificar que la desintegración del tejido depende de varios parámetros del tratamiento, tales como, intensidad del campo eléctrico, temperatura, tiempo de duración y tipo de tejido.

Basados en estos resultados, se buscó un proceso tradicional que combinado con calentamiento óhmico pudieran causar un efecto positivo tanto en rendimiento, como en la calidad final del producto. La deshidratación osmótica cumple ampliamente con estos requisitos, por lo que el presente estudio busca investigar si efectivamente al deshidratar osmóticamente un alimento a través de calentamiento óhmico se obtienen mejoras no solo en la calidad final del producto sino que también una reducción importante en el tiempo de proceso.

La deshidratación osmótica es una tecnología promisoría en cuanto a que preserva mejor la calidad de los alimentos en comparación con los tratamientos de secado convencionales. Esta mejora, no solo se ve reflejada en una mejor apariencia y calidad sensorial general, sino que también, en sus ventajas nutricionales. Lamentablemente, los tiempos de proceso son demasiado largos y hacen poco práctica su implementación industrial. La hipótesis de esta investigación es que al sustituir el modo de calentamiento por el calentamiento óhmico se acelerará el proceso de difusión principalmente por el mecanismo de electroporación. De ésta forma, se obtendrá un producto con la ventajas del deshidratado osmótico y en un tiempo de proceso comparable al secado convencional.

MATERIALES Y METODOS

Materia prima

En ambos tratamientos se utilizaron frambuesas congeladas calidad IQF. Las concentraciones de la solución y las frambuesas fueron determinadas usando un refractómetro Topac Modelo N1a (Cohasset, MA, USA).

Tratamiento de deshidratación osmótica convencional

La deshidratación osmótica fue realizada en una celda de acrílico de 3 litros de capacidad, con un baño termostático mantenido a 50 +/- 1°C. Cinco jaulas de acero inoxidable, cada una conteniendo una cantidad determinada de frambuesas, fueron inmersas en niveles dentro del medio osmótico a razón en peso de fruta y solución deshidratadora 1:7. Dicho medio fue constituido por una solución de glucosa al 62%. Para mantener homogeneizada la solución se utilizó recirculación haciendo uso de una bomba peristáltica. Después del deshidratado osmótico, las frambuesas fueron lavadas y luego secadas con papel para remover la solución de la superficie. A continuación se determinaron los sólidos solubles. Todas las determinaciones fueron realizadas por triplicado.

Tratamiento de deshidratación osmótica por calentamiento óhmico

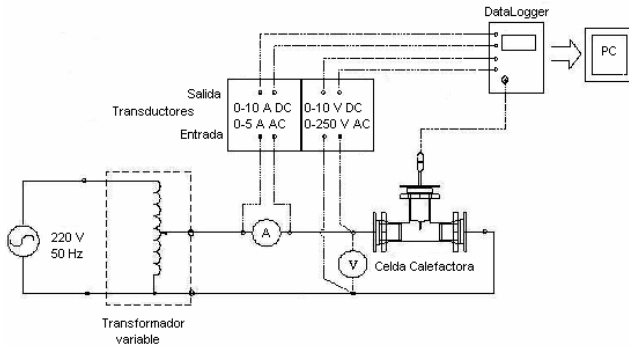
Para el proceso de deshidratación osmótica por calentamiento óhmico se utilizó un transformador variable de 60 Hz para regular la tensión entregada. Además transductores de voltaje y corriente son usados para medir el voltaje y corriente que atraviesa las muestras. La temperatura, el voltaje y la corriente son registradas cada 2 [seg.] en un equipo multi-canal Ellab data logger, modelo CTF-84 (Ellab, Roedovre, Denmark).

Como celda de calentamiento se utilizó una cámara de vidrio en forma de T (Figura 1), cuya función es contener el alimento a procesar. Sus dimensiones son 15 cm de largo y 4 cm de diámetro interno. En la abertura superior consta de una tapa de vidrio en la cual se posiciona un termopar cobre-constantan (Cu-CuNi) (Ellab, Roedovre, Denmark). En los extremos laterales se encuentra ubicado un electrodo en forma de disco de acero inoxidable.

El proceso se desarrolló con el sistema de calentamiento óhmico utilizando la celda calefactora sin agitación (Figura 1), en la cual se introdujo la solución hipertónica (57°Brix) constituida por glucosa, agua destilada y NaCl (0,26% p/p). A ésta se adicionaron 27g. de frambuesas, equivalentes a 10 unidades (10°Brix). Se trabajó en un rango de temperatura entre los 40-50°C por lo cual se realizaron variaciones continuas en el voltaje para lograr mantener dicha condición. Después del tratamiento osmótico, las frambuesas fueron lavadas y secadas con papel para remover la solución de la superficie, y luego se determinaron los sólidos solubles.

FIGURA 1

Equipo de calentamiento óhmico utilizado para la deshidratación osmótica de frambuesas (*Rubus idaeus*)



RESULTADOS

Los datos acerca de la variación de los sólidos solubles en las frambuesas para el tratamiento convencional y el realizado a través de calentamiento óhmico se muestra en la Tabla 1. En esta se aprecia claramente una importante diferencia en el tiempo requerido para alcanzar un determinado grado de deshidratación o concentración (°Brix). Esto queda claramente establecido en la Figura 2, en la cual se incluyen las líneas de tendencia. Resulta evidente que a través de la utilización de calentamiento óhmico se obtienen mejores resultados, logrando reducciones de tiempo de hasta un 50%. Para una mejor comprensión, estos resultados son presentados en la Figura 2.

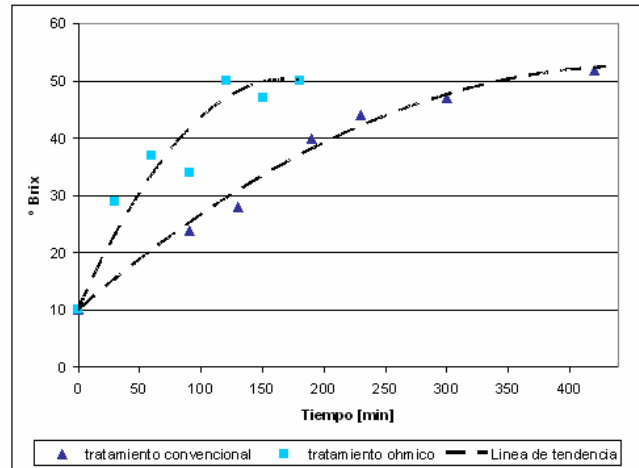
TABLA 1

Evolución de los °Brix de la muestra para tratamiento osmótico en tratamiento convencional y tratamiento ósmótico combinado con calentamiento óhmico

Tiempo [min.]	Tratamiento convencional °Brix Frambuesa	Tratamiento óhmico °Brix Frambuesa
0	10	10
30	-	29
60	-	37
90	24	34
120	-	50
130	28	-
150	-	47
180	-	50
190	40	-
230	44	-
300	47	-
420	52	-

FIGURA 2

Variación de sólidos solubles a través del tiempo en procesos de deshidratación osmótica de frambuesas (*Rubus idaeus*) por calentamiento convencional y por calentamiento óhmico



En el comportamiento de los datos se aprecia para ambos tratamientos una curva de crecimiento con saturación, para el caso del tratamiento convencional, esto ocurre al cabo de 420 minutos, alcanzando las frambuesas los 52°Brix. Por otra parte en el tratamiento con calentamiento óhmico, la saturación se alcanzó a los 180 minutos, obteniéndose las frambuesas con 50°Brix.

DISCUSION

Los resultados observados en la Figura 2, que muestran las diferencias entre ambos tratamientos, se explican sobre la base de las características particulares de cada método. El tratamiento convencional supone una solución homogénea, dado que se mantiene una recirculación constante de ésta, por otro lado el método óhmico se realizó de forma estática por lo que ocurre una precipitación de los sólidos en suspensión (debido a la viscosidad) y por lo tanto una menor concentración en la superficie de la solución. Esto lleva a que se alcance el equilibrio a una concentración menor.

Además de la diferencia de concentraciones entre producto y solución, en el caso del tratamiento convencional actúa el efecto de la temperatura favoreciendo la transferencia de masa a través de la desnaturalización térmica de las membranas celulares. Por otra parte en el calentamiento óhmico la transferencia de masa está favorecida por la electroplasmólisis, la cual contempla la presencia de dos efectos; la desnaturalización térmica y la electroporación.

El segundo punto nos muestra las posibles razones por las cuales a través de calentamiento óhmico se pueden reducir

los tiempos de deshidratado osmótico, adjudicándose a la acción conjunta de dos variables de proceso que se encuentran ligadas, temperatura e intensidad del campo eléctrico. Ya que ambas de forma independiente son capaces de provocar alteraciones en la membrana plasmática, permitiendo la difusión entre zonas internas y externas de las células. Al actuar ambos efectos, la velocidad de difusión se incrementa, lo cual tiene sentido en esta investigación, ya que las temperaturas utilizadas en ambos tratamientos fueron las mismas, convirtiendo así a la intensidad de campo eléctrico (efecto de electroporación) en el agente dominante y determinante en el incremento de la velocidad de difusión, y como consecuencia en la disminución del tiempo de proceso en comparación a la deshidratación osmótica realizada a través de un método convencional (considerando además que se utilizaron bajas intensidades, menores a 100 V/cm).

CONCLUSIONES

El tratamiento de deshidratación osmótica de frambuesas a través de calentamiento óhmico fue muy efectivo para reducir el tiempo de proceso. Los resultados experimentales muestran que esta reducción de tiempo alcanzó hasta un 50% con relación al tratamiento convencional. Dado que se utilizaron temperaturas no mayores a 50°C, no solo se procesó en un tiempo significativamente menor, sino que también con una excelente calidad final del producto.

Con estos resultados se demuestra que la aplicación del calentamiento óhmico combinado con deshidratación osmótica resulta efectivo. En el futuro se planea efectuar experiencias a escala piloto con miras a una potencial aplicación industrial.

AGRADECIMIENTO

Los autores agradecen a la Universidad Técnica Federico Santa María por el financiamiento otorgado a través del proyecto USM 27.07.25.

REFERENCIAS

1. Barbosa-Cánovas G, Góngora N, Pothakamury U, Swanson B. Preservation of Foods with Pulsed Electric Fields. Academic Press, London. 1998.
2. Wang W & Sastry SK. Effects of moderate electrothermal treatments on juice yield from cellular tissue. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 2002; 3,371-377.
3. Kulshrestha S & Sastry SK. Frequency and voltage effects on enhanced diffusion during moderate electric field (MEF) treatment. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 2003;4, 189-194.
4. Zhong T & Lima M. The effects of ohmic heating on vacuum drying rate of sweet potato tissue. *Bioresource Technology*. 2003;87, 215-220.
5. Weaver JC, Chizmadzhev YA. Theory of electroporation: a review. *Bioelectrochemistry and Bioenergetics*. 1996;41,135-160.
6. Sundaram S, Stebe KJ. Dynamic penetration of an insoluble monolayer by a soluble surfactant: theory and experiment. *Langmuir*. 1997;13, 1729-1736.
7. Ngadi M, Bazhal M, Raghavan GSV. Engineering aspects of pulsed electroplasmolysis of vegetable tissues. *J Sci Res Development*. Invited Overview Paper. Vol. V. 2003.
8. Lima M & Sastry S. The effects of ohmic heating frequency on hot-air drying rate and juice yield. *J Food Eng*. 1999;41, 115-119.
9. Wang W & Sastry SK. Effects of thermal and electrothermal pretreatments on hot air drying rate vegetable tissue. *J Food Process Eng*. 2000;23,299-319.
10. Praporscic I, Lebovka NI, Ghnimi S, Vorobiev E. Ohmically heated, enhanced expression of juice from apple and potato tissues. *Biosystems Engineering*. 2006;93(2), 199-204.

Recibido: 24-04-2007

Acepadado: 10-07-2007