

Archivos Latinoamericanos de Nutrición

Organo Oficial de la
Sociedad Latinoamericana de Nutrición

VOL 53

JUNIO 2003

Nº 2

Contenido

Páginas

ARTICULOS GENERALES

El efecto quimioprotector del té y sus compuestos

Elvira González de Mejía 111

Metabolismo del hierro: conceptos actuales sobre un micronutriente esencial

Jose Boccio, Jimena Salgueiro, Alexis Lysionek, Marcela Zubillaga, Cinthia Goldman, Ricardo Weill
y Ricardo Caro 119

TRABAJOS DE INVESTIGACION

Nutrición Humana

Evaluación dietética de adolescentes embarazadas durante el primer, segundo y tercer trimestre

Evelyn Peña, Armando Sánchez, Zulay Portillo y Liseti Solano 133

Perfil de riesgo nutricional en la adolescente embarazada

Evelyn Peña, Armando Sánchez y Liseti Solano 141

Estado de la nutrición de folato, vitamina B₁₂ y hierro en adolescentes embarazadas

María Adela Barón, Liseti Solano, Evelyn Peña, Alba Morón 150

Perfil de aminoácidos plasmáticos en adolescentes saludables embarazadas de Maracaibo, Venezuela

Pablo Ortega, Haydée V. Castejón, María G. Argotte, Gisela Gómez, Lissette Bohorquez, Jesús R. Urrieta 157

Nutrición Experimental

Comparison of serum concentration and dietary intake of α -tocopherol in a sample of urban and rural Costa Rican adolescents

Rafael Monge-Rojas, Thelma Alfaro Calvo, Hilda Nuñez Rivas 165

Comparación de los resultados de dos métodos de encuestas alimentarias

Carmen Urteaga Ribbeck, Anna Christina Pinheiro Fernandes, Eduardo Atalah Samur 172

Bioquímica Nutricional

Efecto del nivel de calcio de la dieta consumida durante gestación y lactancia sobre el zinc en sangre y hueso, en ratas

Adriana Weisstaub, Susana Zeni, Patricia de Ferrer, y María Luz de Portela 178

Microbiología de Alimentos

Quantificação de *Listeria monocytogenes* em salames fatiados embalados a vácuo

Ricardo Ichiro Sakate, Lina Casale Aragon, Fernanda Raghianti, Mariza Landgraf, Bernadette D. G. M. Franco, Maria Teresa Destro..... 184

Ciencias de Alimentos

Cambios físico-químicos del almidón durante la nixtamalización del maíz en variedades con diferente dureza de grano

Salinas Moreno Y, Herrera Corredor J.A, Castillo Merino J. y Pérez Herrera. P. 188

Producción y caracterización parcial de β -galactosidasa de *Kluyveromyces lactis* propagada en suero de leche desproteínizado

Alejandra O. Ramírez Matheus y Nilo Rivas R. 194

Tecnología de Alimentos

Elaboración de un queso tipo “cotija” con base de una mezcla de leche y garbanzo (*Cicer arietinum* L)

Josefina C. Morales de León, Ma. Lorena Cassis Nosthas, Luis Gabriel García Beltrán 202

Desarrollo de una formulación optimizada de mermelada de damasco de bajo contenido calórico utilizando la metodología Taguchi

Mario Villarroel, Ruth Castro, Julio Junod 209

NOTAS 216

NUEVOS LIBROS 217

INFORMACION PARA LOS AUTORES 218

Archivos Latinoamericanos de Nutrición

Official Publication of the
Latin American Society of Nutrition

VOL 53

JUNE 2003

Nº 2

Contents

	Pages
GENERAL ARTICLES	
The chemo-preventive effect of tea and its components Elvira González de Mejía	111
Iron metabolism: current concepts of an essential micronutrient Jose Boccio, Jimena Salgueiro, Alexis Lysionek, Marcela Zubillaga, Cinthia Goldman, Ricardo Weill and Ricardo Caro	119
RESEARCH PAPERS	
Human Nutrition	
Dietary evaluation of pregnant adolescents during first, second and third trimester Evelyn Peña, Armando Sánchez, Zulay Portillo and Liseti Solano	133
Nutritional risk in pregnant adolescents Evelyn Peña, Armando Sánchez and Liseti Solano	141
Folate, vitamin B₁₂ and iron nutritional status in pregnant adolescents María Adela Barón, Liseti Solano, Evelyn Peña, Alba Morón	150

Plasma amino acids profile of healthy pregnant adolescent girls in Maracaibo, Venezuela Pablo Ortega, Haydée V. Castejón, María G. Argotte, Gisela Gómez, Lissette Bohorquez, Jesús R. Urrieta	157
Experimental Nutrition	
Comparison of serum concentration and dietary intake of α-tocopherol in a sample of urban and rural Costa Rican adolescents Rafael Monge-Rojas, Thelma Alfaro Calvo, Hilda Nuñez Rivas	165
Comparison of results from two dietary interview methods Carmen Urteaga Ribbeck, Anna Christina Pinheiro Fernandes, Eduardo Atalah Samur	172
Nutritional Biochemistry	
Influence of dietary calcium during prenatalancy and lactation on zinc levels in maternal blood and bone, in rats Adriana Weisstaub, Susana Zeni, Patricia de Ferrer, y María Luz de Portela	178
Food Microbiology	
Occurrence of <i>Listeria monocytogenes</i> in pre-sliced vacuum-packaged salami in São Paulo - Brazil Ricardo Ichiro Sakate, Lina Casale Aragon, Fernanda Raghianti, Mariza Landgraf, Bernadette D. G. M. Franco, Maria Teresa Destro.....	184
Food Science	
Physicochemical changes in corn starch during alkaline-cooking in varieties with different kernel hardness Salinas Moreno Y, Herrera Corredor J.A, Castillo Merino J. y Pérez Herrera. P.	188
Production and partial characterization of β-galactosidase from <i>Kluyveromyces lactis</i> grown in deproteinized whey Alejandra O. Ramírez Matheus y Nilo Rivas R.	194
Food Technology	
Elaboration of “cotija” type cheese made of whole milk and chickpea (<i>Cicer arietinum</i> L) Josefina C. Morales de León, Ma. Lorena Cassis Nosthas, Luis Gabriel García Beltrán	202
Development of an optimized dietetic formulation of damask marmalade using the Taguchi methodology Mario Villarroel, Ruth Castro, Julio Junod	209
NOTES	216
NEW BOOKS	217
INFORMATION FOR AUTHORS	218

El efecto quimioprotector del té y sus compuestos

Elvira González de Mejía

Department of Food Science and Human Nutrition, University of Illinois, Urbana-Champaign, U.S.A.

RESUMEN. El té es una bebida consumida mundialmente desde tiempos ancestrales con el propósito de mejorar la salud. Entre sus componentes principales están los polifenoles conocidos como flavonoides, cuyos principales representantes son las catequinas y las teaflavinas. Varios estudios epidemiológicos sugieren que el consumo de té verde podría prevenir el cáncer en humanos. De manera similar, estudios con animales demuestran que el cáncer de próstata y de mama pueden reducirse por la ingesta de té verde. Se ha demostrado que, a través de diversos mecanismos de acción, los polifenoles constituyentes del té presentan actividad antioxidante y anticarcinogénica, proporcionando así múltiples beneficios a la salud. Es importante caracterizar mejor los componentes del té, estudiar su biodisponibilidad y su biotransformación *in vivo*, y efectuar estudios clínicos de sus principales compuestos activos. **Palabras clave:** Té, polifenoles, antioxidantes, epigallocatequina galato, efecto quimioprotector.

SUMMARY. The chemo-preventive effect of tea and its components. Tea has been consumed worldwide since ancient times to maintain and improve health. Its main active components are a type of polyphenols known as flavonoids, which include catechins and theaflavins. Several epidemiological studies suggest that the consumption of green tea could prevent cancer development in humans. Likewise, animal studies have shown that green tea consumption may inhibit the development of prostate and breast cancer. It has been shown that, through several mechanisms, tea polyphenols present antioxidant and anticarcinogenic activities, thus affording several health benefits. It is important to better characterize tea components, to study their bio-availability and biotransformation *in vivo* and to conduct clinical studies of its main active compounds.

Key words: Tea, polyphenols, antioxidants, epigallocatechin gallate, chemopreventive effect.

INTRODUCCION

El té es una de las bebidas de mayor consumo en el mundo (1). Varios estudios científicos le han atribuido a esta bebida diversas propiedades preventivas y terapéuticas (2,3). Por ejemplo, el té presenta varios efectos protectores para combatir enfermedades cardiovasculares, la hipertensión renal y la diabetes. Asimismo, presenta un efecto protector hacia la piel y los ojos, un efecto antiartrítico, antiviral, antibacteriano, y anticarcinogénico (4). Los polifenoles del té pueden además inhibir la activación de carcinógenos y aumentar su eliminación.

Generalidades del té: composición y biodisponibilidad

El té se obtiene a partir de la infusión de las hojas secas de *Camellia sinensis*, un miembro de la familia de las *Tesaceas*. Generalmente, se encuentra en forma de un árbol o un arbusto, el cual puede llegar a alcanzar una altura de 9 metros, pero se poda para mantener una altura de 0.6 a 1.5 metros cuando se utiliza como cultivo. El follaje es usualmente muy denso, ya que cuenta con miles de hojas ovaladas de color verde oscuro, las cuales se cosechan antes de madurar. Aquellas hojas que son cosechadas después de un período más largo se consideran de menor calidad. El té puede ser clasificado en tres grupos principales, dependiendo

de su proceso de manufactura: té verde, té negro y té oolong. Las hojas del té verde se hornean al vapor para inactivar a las enzimas que provocan la oxidación de los polifenoles. Las hojas del té negro son trituradas y expuestas a una humedad muy alta para inducir la oxidación aeróbica de los polifenoles, un proceso conocido también como fermentación. El té oolong se obtiene después de un período corto de fermentación (1).

Los compuestos activos del té son los flavonoides, un tipo de polifenoles que poseen propiedades antioxidantes muy potentes (5), e incluyen polifenoles de los grupos catequina (té verde) y teaflavina (té negro) (6). Los flavonoides se encuentran de manera natural en las plantas. El contenido de flavonoides del té depende directamente del tipo de té y de su método de preparación. Generalmente, una taza de té negro, preparado con 2.5 g de hojas de té, contiene alrededor de 200 mg de flavonoides (7,8). En estudios con modelos animales, se ha demostrado que el extracto de té verde puede mejorar la salud muscular al reducir o retardar la necrosis del músculo, por medio de un mecanismo antioxidante (9). En ratas, el té negro ha demostrado varios efectos protectores que actúan para inhibir la peroxidación lipídica, causada por oxidantes como el tetracloruro de carbono (CCl_4), en el hígado, los riñones y los testículos (10). Estos mecanismos protectores se deben en parte a las propiedades antioxidantes

del té, ya que éste atrapa a los radicales libres producidos por la presencia del CCl_4 (10). Se ha concluido que el té es una fuente significativa de flavonoides polifenólicos que presentan actividad antioxidante muy potente *in vitro* e *in vivo*.

Por otro lado, se ha encontrado que los flavonoides del tipo galato (como la epigallocatequina galato y las teaflavinas con galato) actúan sobre moléculas claves en la regulación del crecimiento celular, y, más específicamente, sobre las rutas metabólicas relacionadas a la angiogénesis (11). Estos son otros mecanismos de acción de los componentes del té que van más allá de sus propiedades antioxidantes.

Warden et al. (12) comprobó la biodisponibilidad de las principales catequinas del té negro en personas que lo consumieron a lo largo del día. Después de consumir una dieta baja en flavonoides durante cinco días, los sujetos del estudio ingirieron una preparación de té negro que contenía 15.48, 36.54, 16.74 y 31.14 mg de epigallocatequina (EGC), epicatequina (EC), epigallocatequina galato (EGCG) y epicatequina galato (ECG) respectivamente, cada dos horas (0, 2, 4 y 6 horas). Se observó que las concentraciones de las catequinas en el plasma incrementaron significativamente con respecto al control ($P < 0.05$). Las concentraciones de EGC, EC, y EGCG presentaron sus valores más altos en el plasma después de 5 h y la ECG después de 24 h. La excreción urinaria de EGC y EC, incrementó en relación al control ($P < 0.05$). Aproximadamente 1.68% de las catequinas consumidas se encontraron en el plasma, la orina o las heces, y la biodisponibilidad de las catequinas con galato fue menor que aquella de las catequinas sin galato. Aunque las catequinas demostraron ser biodisponibles, estas fueron absorbidas en cantidades relativamente pequeñas en comparación a las cantidades ingeridas.

Por otro lado, también es importante reconocer que los polifenoles interfieren con la absorción de ciertos compuestos en la dieta. Por ejemplo, presentan una afinidad alta hacia proteínas ricas en prolina, como la caseína, la leche, la gelatina, y las proteínas en la saliva (13), lo cual puede reducir su digestibilidad y aumentar la excreción del nitrógeno en humanos (13). La formación de complejos polifenol-proteína sucede solamente en moléculas accesibles a proteínas solubles (14).

De igual manera, los polifenoles del té interactúan fácilmente con los iones metálicos de transición y forman complejos insolubles como sucede con el hierro. El enlazamiento con el hierro en el tracto gastrointestinal inhibe significativamente su absorción (14,15). El té negro inhibe dicha absorción más que el té verde. Este proceso de enlace afecta solamente al hierro no-hemínico, y el efecto de inhibición puede ser reducido al consumirse ácido ascórbico (16). Cabe aclarar que no se ha observado un efecto adverso en individuos con dietas balanceadas. Sin embargo, se ha notado una prevalencia de anemia en poblaciones con una

ingesta baja en hierro (16). El proceso por medio del cual el té inhibe la absorción de hierro incluye la formación de complejos entre el grupo galoilo, principalmente, y el hierro (17). La relación molar entre los flavonoides y el hierro es directamente dependiente del pH; la relación varía entre 1:1 con pH 2, 2:1 con pH 5.5, y 3:1 con pH 8.0 (7). En aquellas poblaciones con dietas inadecuadas, o en individuos con un requerimiento de hierro elevado (niños), el té puede reducir significativamente la disponibilidad de hierro no-hemínico e inducir deficiencia de hierro. Esto sucede especialmente cuando la dieta no contiene cantidades adecuadas de ácido ascórbico (18). Por lo tanto, se recomienda a los individuos vegetarianos consumir té solo entre comidas, ya que el hierro obtenido de fuentes vegetales no es tan biodisponible como el de fuentes animales, y el efecto de enlazamiento con los fenoles del té podría reducir aún más las cantidades de hierro disponibles en su dieta. Al igual, se ha observado una inhibición en la absorción de zinc en ratas; los resultados con cobre son inconclusos. Los polifenoles también pueden interferir con la biodisponibilidad de sodio y de aluminio, pero no con el manganeso, el calcio o el magnesio (14).

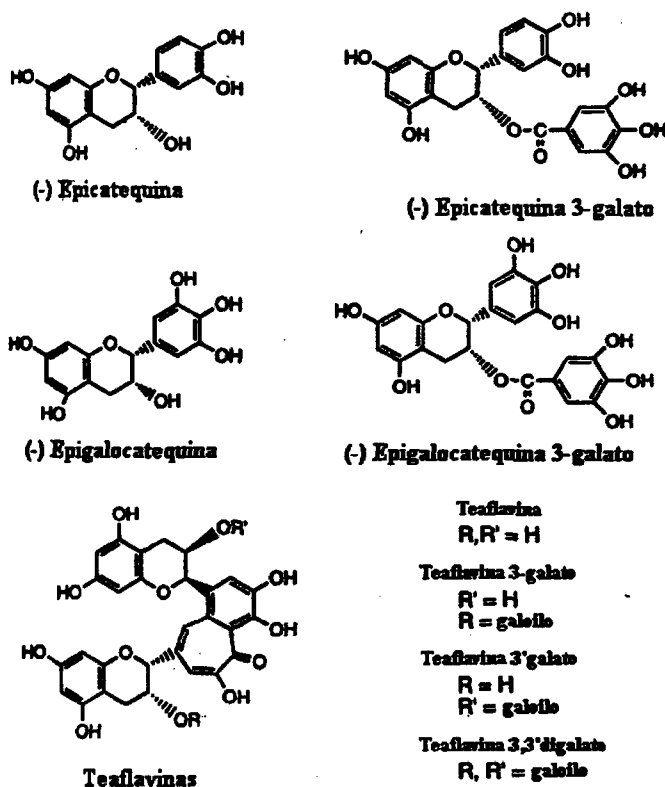
En general se sabe poco sobre la digestión, la absorción y el metabolismo del té en humanos y estos aspectos podrían resultar temas interesantes de estudio.

Los flavonoides del té

La estructura química de los flavonoides polifenólicos tiene un impacto directo sobre sus propiedades biológicas, como su biodisponibilidad, su actividad antioxidante, su interacción con enzimas y con receptores celulares, y con la velocidad y el grado de su absorción intestinal. La Figura 1 muestra las estructuras químicas de los flavonoides más comunes en extractos de té (1) y la Tabla 1 ilustra los principales componentes del té verde y del té negro (19). La distribución de flavonoides en el té verde es de 90% de catequinas y 10% de flavonoles. En cambio, como resultado del proceso de fermentación, las catequinas del té se polimerizan, lo cual provoca la formación de teaflavinas y tearubiginas. Por lo tanto, la distribución de flavonoides en el té negro es de 30% de catequinas, 47% de tearubiginas, 13% de teaflavinas, y 10% de flavonoles. De esta manera, una diferencia importante entre el té verde y el té negro es que el primero no contiene teaflavinas. La Tabla 2 muestra algunos de los componentes flavonoides de los té verde y negro (4). Otros compuestos, no mencionados en esta tabla, son las proantocianidinas y los compuestos volátiles (linalool, delta-cardineno, geraniol, nerolidol, alfa-terpineol, cis-jasmone, indol, beta-ionone, 1-octanal, indol-3-carbinol, beta-cariofileno). El porcentaje de catequinas en el extracto de té verde es de 46.80% de EGCG, 13.54% de ECG, 7.24% de GCG, 8.07% de EC, 2.28% de EGC, 2.46% de GC, 1.28% de CG, 2.22% de catequina, y $< 0.3\%$ de cafeína (20).

FIGURA 1

Estructura química de los principales flavonoides del té



*Adaptado de Yang et al. (1).

TABLA 1

Principales componentes del té (% del peso de sólidos)

	Té verde	Té negro
Catequinas	30-42	3-10
Teaflavinas	-	2-6
Polifenoles sencillos	2	3
Flavonoles	2	1
Otros polifenoles	6	23
Teanina	3	3
Amino ácidos	3	3
Péptidos/proteínas	6	6
Acidos orgánicos	2	2
Azúcares	7	7
Otros carbohidratos	4	4
Caféina	3-6	3-6
Potasio	5	5
Otros minerales/ceniza	5-8	5-8

*Adaptado de Balentine et al. (19).

TABLA 2

Componentes flavonoides del té

	Peso seco (%)	
	Té verde	Té negro
Catequinas ¹	30-42	10-12
Teaflavinas ²		3-6
Tearubígenos		12-18
Teogalina	2-3	
Flavonoles ³	5-10	6-8
Metilxantinas ⁴	7-9	8-11
Amino Ácidos ⁵	4-6	
Ácidos Orgánicos ⁶	2	

*Adaptado de Dufresne y Farnworth (4).

1 Principales componentes: epigallocatequina galato, epicatequina galato, galocatequina galato, epicatequina, epigallocatequina, galocatequina, catequina.

2 Principales componentes: teaflavina-3-galato, teaflavina-3'-galato, teaflavina-3,3'-digalato.

3 Principales componentes: quercetina, campferol, rutina.

4 Principales componentes: caféina, teobromina, teofilina.

5 Principales componentes: teanina.

6 Principales componentes: ácido caféico, ácido quínico, ácido gálico.

Existen varios métodos, en la literatura científica, para el análisis de flavonoides en diferentes té (21-27). Un método simple, rápido y preciso utiliza HPLC en gradiente con metanol y agua ligeramente acidificada, con una columna C₁₈ de fase reversa y un detector de arreglo de diodos (28). A pesar de que varios estudios *in vitro* y con animales han encontrado que los flavonoides son metabolizados en el tracto gastrointestinal, no existen suficientes procedimientos analíticos para monitorear la formación de productos metabólicos de quercetina en la orina de humanos (29).

Para poder entender más claramente el impacto de los polifenoles sobre la salud humana, es importante conocer la naturaleza química de los principales polifenoles en la dieta, las cantidades ingeridas, su biodisponibilidad y los factores que controlan dicha biodisponibilidad (30). Los escasos estudios sobre biodisponibilidad demuestran que la cantidad de polifenoles intactos en la orina varían de un compuesto fenólico a otro (31). La mayor parte (75-99%) de los polifenoles ingeridos no se encuentran en la orina. Esto implica que no se absorbieron a través de la barrera gástrica, o bien que se absorbieron y fueron excretados por medio de la bilis, o que fueron metabolizados por la flora intestinal (16). Aherne y O'Brien (32) efectuaron una revisión interesante de los estudios publicados sobre la absorción y el metabolismo de flavonoles en humanos. Estos autores concluyen que el consumo diario de flavonoides en general es difícil de estimar, debido a que los valores dependen de la evaluación exacta de los hábitos alimentarios y de su contenido en alimentos.

Capacidad protectora del té y sus componentes

Recientemente se ha demostrado que el té verde, y en particular la EGCG, inhiben de manera efectiva el crecimiento de células cancerosas, sin afectar el crecimiento de las células normales. Por ejemplo, Fujimoto et al. (33) sugieren que el extracto de té verde puede contribuir a la prevención del cáncer de pulmón, ya que EGCG o EGC inhiben el desarrollo de células pulmonares cancerosas, a través de la inducción de células apoptóticas. Al igual, Das et al. (34) descubrieron que el té verde inhibe el crecimiento de tumores y previene la metástasis, con una reducción significativa en la peroxidación en el suero de ratones. Se cree que la inhibición en la proliferación celular y la inducción de apoptosis en el tracto digestivo, son los mecanismos reponsables de producir los efectos quimioprotectores que actúan sobre el cáncer de colon inducido químicamente (35-37). Zhang et al. (38) descubrieron que los té verde, negro y oolong inhiben la proliferación de líneas celulares hepáticas en ratas. Feng et al. (39) sugieren que ciertos antioxidantes, como los polifenoles tipo quercetina, inhiben la producción de radicales libres en la mitocondria. Sin embargo, los antioxidantes polifenólicos derivados del té no inhiben la peroxidación lipídica *in vivo* en humanos (40). La biodisponibilidad y la biotransformación de los polifenoles del té son factores clave que pueden limitar la actividad quimioprotectora *in vivo*.

A lo largo de la última década, varios estudios epidemiológicos y de casos controlados han encontrado una relación directa entre la ingesta de té, en particular de té verde, y un menor riesgo de desarrollar cáncer en humanos (41,42). Así también los estudios clínicos sugieren un posible efecto benéfico del consumo de té sobre la incidencia de cáncer de mama, esófago, pulmón, estómago, colon, riñón, próstata, piel y mucosa oral (2). Asimismo, en base a los resultados de estudios *in vitro* e *in vivo* con animales, se sabe que los polifenoles del té muestran ciertos efectos benéficos para la salud durante la mayoría de las etapas del desarrollo de cáncer (43-48). Se cree que esto es debido a su capacidad de actuar directamente sobre ciertos carcinógenos.

El té verde en polvo también ha demostrado actividad antiproliferativa e hipolipídica sobre células hepáticas (49). Takada et al. (50) encontraron recientemente que las células cancerosas del tracto biliar humano mostraron una supresión significativa en su crecimiento y una capacidad de invasión reducida debido al tratamiento con EGCG, dependiente de la dosis.

Smith y Dou (51) demostraron que el polifenol epigallocatequina inhibe el proceso de replicación de ADN y, por lo tanto, induce la apoptosis de células leucémicas. La epigallocatequina inhibe la incorporación de [³H]-timidina en las células humanas Jurkat T, HL-60 y K562, e inhibe el progreso de la fase S a la fase G₂. La inducción de la apoptosis en las células cancerosas por parte de la epigallocatequina sucede

posteriormente a la inhibición del progreso de la fase S.

El té induce enzimas como la glutatión S-transferasa, la UDP glucuronosil-transferasa, la NADPH-quinona oxidoreductasa, y las enzimas antioxidantes, las cuales contribuyen con la eliminación de los compuestos carcinogénicos (48).

Metz et al. (52) demostraron que el extracto de té verde suprime la formación de lesiones preneoplásicas inducidas químicamente en el colon de ratas. La EGCG y la EGC también inhibieron el crecimiento de células cancerosas del colon humano, por lo que se considera que pudieran ser considerados como agentes terapéuticos, siempre y cuando su capacidad de absorción oral y su estabilidad en el plasma se puedan mejorar a través de modificaciones químicas (53). Al igual, Jia y Han (35) demostraron que el té verde inhibe el crecimiento de tumores del colon, inducidos químicamente en ratas, debido principalmente a la inhibición en la proliferación celular y la inducción de la apoptosis en las criptas intestinales.

Hayakawa et al. (54) demostraron que las fracciones con un peso molecular elevado en el té verde, negro y oolong inducen la apoptosis en las células humanas monoblásticas leucémicas U937, gracias a su capacidad de inhibir la proliferación celular. Estas fracciones de té también indujeron la apoptosis en las células cancerosas MKN-45 del estómago humano. Gupta et al. (55) demostraron que por medio de una infusión oral de fracciones polifenólicas aisladas del té verde, se inhibió el desarrollo del cáncer de próstata en ratones, lo cual aumentó su sobrevivencia. Las dosis ingeridas, equivalen a 6 tazas de té verde al día, logrando la inhibición casi total de la metástasis.

A pesar de que existen pocos estudios epidemiológicos sobre la relación flavonoides-cáncer y algunos son aún controversiales, se ha sugerido un efecto protector. Por otro lado, los efectos benéficos son más claros en modelos de tumorigénesis con animales y los estudios *in vitro* han contribuido con el conocimiento de su mecanismo de acción. Lamentablemente, los resultados de estudios en humanos no son concluyentes.

Tés de hierbas

Cientos de té procedentes de hierbas son vendidos actualmente en diversas presentaciones, incluyendo mezclas de raíces, hojas, semillas, corteza, y otras partes de arbustos y de árboles (56). En México, por ejemplo, el extracto acuoso obtenido de las hojas secas de *Ardisia compressa* ha sido utilizado eficazmente como un medicamento popular en contra de varios males del hígado, incluyendo el cáncer. *A. compressa* es una planta de la familia Myrsinaceae que crece en la costa del Pacífico Mexicano. En nuestro laboratorio, hemos demostrado los efectos protectores del extracto de hojas secas de *A. compressa* sobre la genotoxicidad, la

citotoxicidad, y el daño oxidativo inducido por benomilo y por 1-nitropireno en hepatocitos de rata (57,58). Se cree que esto es posible gracias a ciertos mecanismos enzimáticos antioxidantes relacionados con los diferentes constituyentes que se encuentran en el extracto acuoso. Varias fracciones aisladas de *A. compressa* mostraron un efecto inhibitorio hacia las topoisomerasas I y II, lo cual presenta la posibilidad de que varios compuestos del extracto sean quimioprotectores (59). Su nivel de compuestos fenólicos (16.79 ± 1.22 mg/g de hojas secas), está de acuerdo a lo encontrado en la literatura para otros tés (60). Igualmente, los estudios *in vivo* demostraron los efectos inhibitorios del extracto de *A. compressa*, los cuales suprimen la formación y el crecimiento de tumores hepáticos (datos aún no publicados).

Mecanismos de acción

Numerosos mecanismos han sido propuestos para explicar la actividad anticarcinogénica del té verde y sus componentes, pero ninguna parece universal para todos los tipos de cáncer (61). El equilibrio entre las enzimas de la fase I, las cuales activan la angiogénesis, y las enzimas detoxificantes de la fase II es muy importante para determinar el riesgo de desarrollar cáncer y el efecto protector de la ingesta de té (62). Varios estudios han confirmado el efecto inductor del té en la expresión de las enzimas detoxificantes de la fase II (63) y el efecto de los polifenoles de té sobre la apoptosis (64). Este último efecto sucede sin daño a las células epiteliales normales por medio de la intervención de un ciclo de regulación celular mediado por p57 (65). Algunos otros mecanismos de acción propuestos incluyen la regulación del efecto androgénico sobre algunos órganos (66), la inhibición de la angiogénesis por medio de una restricción en la actividad proteolítica (67) y la escasez de nutrientes y de oxígeno en las células (68-70). Recientemente también se ha informado que el consumo de té produce una reducción en la actividad de la ornitina descarboxilasa, la cual es responsable de catalizar el proceso regulatorio de la biosíntesis de las poliaminas, relacionado con la proliferación celular y la carcinogénesis (71). Otra observación importante ha sido la de Jankun et al. (72), quienes encontraron que el té verde inhibe la actividad de la enzima uroquinasa, crucial para el crecimiento del cáncer. Puede agregarse a esta lista el hecho de que la EGCG interactúa con varios eventos celulares mediados por las metaloproteinasas (factores de crecimiento angiogénico) en células cancerosas y crea un mecanismo para la expresión de las propiedades inhibitorias del cáncer (73). Algunos otros mecanismos moleculares propuestos como posibles rutas quimioprotectoras del té incluyen la inducción de la apoptosis y la terminación del ciclo celular por medio de las catequinas, la inhibición de los factores de transcripción NF- κ B y AP-1 (involucrados en la inflamación y en la sobrevivencia de las células cancerosas) (74) y la disminución

en la actividad de la tirosina quinasa (75).

Los inhibidores de topoisomerasas del ADN constituyen una familia nueva de agentes anticarcinogénicos con actividad clínica comprobada en humanos (76). Al igual, se ha demostrado que la EGCG inhibe la topoisomerasa I, mas no la topoisomerasa II, en varias líneas de células cancerosas del colon humano. Ferguson (77) ha logrado aclarar el papel de los polifenoles en la estabilidad del genoma y sugiere la necesidad de efectuar estudios sobre el papel inhibitorio de los fenoles sobre las enzimas topoisomerasas II y sus posibles implicaciones a la salud.

CONCLUSIONES

El uso futuro del té y de sus componentes como sustancias nutraceuticas y funcionales es muy prometedor. Es posible que los tés que se cultivan en diferentes localizaciones geográficas o durante diferentes épocas del año tengan un efecto farmacológico diferente, probablemente relacionado con el contenido fenólico de las hojas. La mayoría de los estudios existentes indican que el té tiene efectos antioxidantes y quimioprotectores. Los polifenoles presentes en té pueden modular muchos procesos biológicos en las células tales como el crecimiento, las transformaciones malignas, la metástasis y la apoptosis. Con respecto a cuestiones prácticas, y teniendo en cuenta las concentraciones apropiadas de flavonoides para la salud, una persona debería consumir aproximadamente 1 litro de té al día con un nivel estimado de 150 mg de epigallocatequina galato. Este nivel de ingesta se puede incorporar a la dieta regular. Sin embargo, la relación efecto-dieta debe ser estudiada más a fondo, al igual que los constituyentes activos y los mecanismos protectores del té. La pregunta sobre los beneficios reales del té a la salud humana y su régimen de consumo más adecuado continúa siendo motivo de estudio científico. Igualmente, es importante identificar cuales otros compuestos en el té, además de los aquí mencionados, tienen un efecto quimioprotector.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco la valiosa ayuda editorial del Sr. Luis Antonio Mejia, Jr.

REFERENCIAS

1. Yang CS, Prabhu S, Landau J. Prevention of carcinogenesis by tea polyphenols. *Drug Metab Rev.* 2001;33(3-4):237-253.
2. McKay DL, Blumberg JB. The role of tea in human health: an update. *J Am Coll Nutr.* 2002;21(1):1-13.
3. Sueoka N, Suganuma M, Sueoka E, Okabe S, Matsuyama S, Imai K, Nakachi K, Fujiki H. A new function of green tea:

- prevention of lifestyle-related diseases. *Ann N Y Acad Sci*. 2001;928:274-280.
4. Dufresne CJ, Farnworth ER. A review of latest research findings on the health promotion properties of tea. *J Nutr Biochem*. 2001;12:404-421.
 5. Green BR, Cox DM, McBride J, Byron KM, O'Neill KL. A comparison of the antioxidant capacities of green tea, white tea and T-epigallocatechin-3-gallate by the TOSC assay. *American Association of Cancer Research 93rd Annual Meeting* 2002;43:473.
 6. Benelli R, Vene R, Bisacchi D, Garbisa S, Albini A. Anti-invasive effects of green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate (EGCG), a natural inhibitor of metallo and serine proteases. *Biol Chem*. 2002;383(1):101-105.
 7. Hallberg L, Rossander L. Improvement of iron nutrition in developing countries: comparison of adding meat, soy, ascorbic acid, citric acid and ferrous sulfate on iron absorption from a simple Latin American-type of meal. *Am J Clin Nutr*. 1984;39:577-583.
 8. Zhang D, Hendricks DG, Mahoney AW, Yu Y. Effect of tea on dietary iron bioavailability in anemic and healthy rats. *Nutr Rep Int*. 1988;37:1225-1235.
 9. Buetler TM, Renard M, Offord EA, Schneider H, Ruegg UT. Green tea extract decreases muscle necrosis in MDX mice and protects against reactive oxygen species. *Am J Clin Nutr*. 2002;75(4):749-753.
 10. Fadhel ZA, Amran S. Effects of black tea extract on carbon tetrachloride-induced lipid peroxidation in liver, kidneys, and testes of rats. *Phytother. Res*. 2002; 16 Suppl 1:28-32.
 11. Wiseman S, Mulder T, Rietveld A. Tea flavonoids: bioavailability in vivo and effects on cell signaling pathways in vitro. *Antioxid. Redox Signal*. 2001;3(6):1009-1021.
 12. Warden BA, Smith LS, Beecher GR, Balentine DA, Clevidence BA. Catechins are bioavailable in men and women drinking black tea throughout the day. *J Nutr*. 2001;131:1731-1737.
 13. Hollman PCH, Tijburg LBM, Yang CS. Bioavailability of flavonoids from tea. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 1997a;37:719-738.
 14. Bravo L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance. *Nutr Rev*. 1998;56:317-333.
 15. Hurrell RF, Reddy M, Cook JD. Inhibition of non-haem iron absorption in man by polyphenolic-containing beverages. *Br J Nutr*. 1999;81:289-295.
 16. Hollman PCH, van Trijp JMP, Buysman MNCP, van der Gaag MS, Mengelers MJB, de Vries JHM, Katan MB. Relative bioavailability of the antioxidant flavonoid quercetin from various foods in man. *FEBS Lett*. 1997b; 418:152-156.
 17. Brune M, Rossander L, Hallberg L. Iron absorption and phenolic compounds: importance of different phenolic structures. *Eur J Clin Nutr*. 1989;43:547-558.
 18. Zijp IM, Korver O, Tijburg LBM. Effect of tea and other dietary factors on iron absorption. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2000; 40(5): 371-398.
 19. Balentine DA, Wiseman SA, Bouwens CM. The Chemistry of Tea Flavonoids. *Crit Rev Food Nutr*. 1997;37(8):693-704.
 20. Tijburg LBM, Mattern T, Folts JD, Weisgerber UM, Katan MB. Tea flavonoids and cardiovascular diseases: a review. *Crit Rev Food Nutr*. 1997;37(8): 771-785.
 21. Filip R, Lopez P, Giberti G, Coussio J, Ferraro G. Phenolic compounds in seven South American *Ilex* species. *Fitoterapia* 2001;72:774-778.
 22. Lee B-L, Ong C-N. Comparative analysis of tea catechins and theaflavins by highperformance liquid chromatography and capillary electrophoresis. *J Chromatogr A*. 2000;88:439-447.
 23. Wang H, Helliwell K, You X. Isocratic elution system for the determination of catechins, caffeine and gallic acid in green tea using HPLC. *Food Chem*. 2000; 68:115-121.
 24. Bronner W E, Beecher G R. Method for determining the content of catechins in tea infusions by high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr A* 1998; 805, Issues 1-2:137-142.
 25. Lin J, Lin C, Liang Y, Lin-Shiau S, Juan I. Survey of Catechins, Gallic Acid, and Methylxanthines in Green, Oolong, Pu-erh, and Black Teas *J. Agric Food Chem* 1998;46:3635-3642.
 26. Cook N C, Samman S. Flavonoids-Chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources, *The J Nutr Biochem*. 1996;7, Issue 2:66-76.
 27. Goto T, Yoshida Y, Kiso M, Nagashima H. Simultaneous analysis of individual catechins and caffeine in green tea. *J Chromatogr A* 1996;749:295-299.
 28. Zuo Y, Chen H, Deng Y. Simultaneous determination of catechins, caffeine and gallic acids in green, Oolong, black and pu-erh teas using HPLC with a photodiode array detector. *Talanta* 2002;57:307-316.
 29. Beecher GR, Warden BA, Merken H. Analysis of tea polyphenols. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1999; 220(4): 267-270.
 30. Vaidyanathan JB, Walle T. Transport and metabolism of the tea flavonoid (-)-epicatechin by the human intestinal cell line Caco-2. *Pharm. Res*. 2001;18(10):1420-1425.
 31. Scalbert A, Williamson G. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *J Nutr*. 2000;130:2073S-2085S.
 32. Aherne SA, O'Brien NM. Dietary flavonols: chemistry, food content, and metabolism. *Nutrition* 2002;18(1):75-81.
 33. Fujimoto N, Sueoka N, Sueoka E, Okabe S, Suganuma M, Harada M, Fujiki H. Lung cancer prevention with (-)-epigallocatechin gallate using monitoring by heterogeneous nuclear ribonucleoprotein B1. *Int. J. Oncol*. 2002; 20(6): 1233-1239.
 34. Das M, Sur P, Gomes A, Vedasiromoni JR, Ganguly DK. Inhibition of tumour growth and inflammation by consumption of tea. *Phytother. Res*. 2002; 16 Suppl 1:S40-44.
 35. Jia XD, Han C. Chemoprevention of tea on colorectal cancer induced by dimethylhydrazine in Wistar rats. *World J Gastroenterol*. 2000;6(5):699-703.
 36. Jia X, Han C. Effects of green tea on colonic aberrant crypt foci and proliferative indexes in rats. *Nutr Cancer* 2001;39(2): 239-243.
 37. Luceri C, Caderni G, Sanna A, Dolara P. Red wine and black tea polyphenols modulate the expression of cyclooxygenase-2, inducible nitric oxide synthase and glutathione-related enzymes in azoxymethane-induced F344 rat colon tumors. *The J Nutr*. 2002;132(6):1376-1379.
 38. Zhang G, Miura Y, Yagasaki K. Induction of apoptosis and cell cycle arrest in cancer cells by in vivo metabolites of teas. *Nutr Cancer* 2000; 38(2):265-273.

39. Feng Q, Kumagai T, Torii Y, Nakamura Y, Osawa T, Uchida K. Anticarcinogenic antioxidants as inhibitors against intracellular oxidative stress. *Free Radic. Res.* 2001;35(6): 779-788.
40. Hodgson JM, Croft KD, Mori TA, Burke V, Beilin LJ, Puddey IB. Regular ingestion of tea does not inhibit in vivo lipid peroxidation in humans. *J Nutr.* 2002;132(1): 55-58.
41. Su LJ, Arab L. Tea consumption and the reduced risk of colon cancer - results from a national prospective cohort study. *Public Health Nutr.* 2002;5(3):419-426.
42. Ke L, Yu P, Zhang ZX, Huang SS, Huang G, Ma XH. Congou tea drinking and oesophageal cancer in South China. *Br J Cancer* 2002;86(3):346-347.
43. Yang CS, Wang ZY. Tea and cancer. *J Natl Cancer Inst.* 1993; 85:1038-1049.
44. Dreosti IE. Bioactive ingredients: antioxidants and polyphenols in tea. *Nutr Rev.* 1996;54:S51.
45. Katiyar SK, Mukhtar H. Tea in chemoprevention of cancer: epidemiologic and experimental studies (review). *Int J Oncol.* 1996;8:221-238.
46. Sartippour MR, Heber D, Ma J, Lu Q, Go VL, Nguyen M. Green tea and its catechins inhibit breast cancer xenografts. *Nutr Cancer* 2001;40(2):149-156.
47. Hirose M, Nishikawa A, Shibutani M, Imai T, Shirai T. Chemoprevention of heterocyclic amine-induced mammary carcinogenesis in rats. *Environ Mol Mutagen* 2002;39(2-3):271-278.
48. Yang CS, Maliakal P, Meng X. Inhibition of carcinogenesis by tea. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 2002;42:25-54.
49. Zhang G, Miura Y, Yagasaki K. Effects of dietary powdered green tea and theanine on tumor growth and endogenous hyperlipidemia in hepatoma-bearing rats. *Biosci. Biotech Biochem.* 2002;66(4):711-716.
50. Takada M, Ku Y, Habara K, Ajiki T, Suzuki Y, Kuroda Y. Inhibitory effect of epigallocatechin-3-gallate on growth and invasion in human biliary tract carcinoma cells. *World J Surg* 2002;26(6):683-686.
51. Smith, DM and Dou, QP. Green tea polyphenol epigallocatechin inhibits DNA replication and consequently induces leukemia cell apoptosis. *Int J Mol Med.* 2001;7:645-652.
52. Metz N, Lobstein A, Schneider Y, Gossé F, Schleiffer R, Anton R, Raul F. Suppression of azoxymethane-induced preneoplastic lesions and inhibition of cyclooxygenase-2 activity in the colonic mucosa of rats drinking a crude green tea extract. *Nutr. Cancer* 2000; 38(1): 60-64.
53. Uesato S, Kitagawa Y, Kamishimoto M, Kumagai A, Hori H, Nagasawa H. Inhibition of green tea catechins against the growth of cancerous human colon and hepatic epithelial cells. *Cancer Letters* 2001;170:41-44.
54. Hayakawa S, Kimura T, Saeki K, Koyama Y, Aoyagi Y, Noro T, Nakamura Y, Isemura M. Apoptosis-inducing activity of high molecular weight fractions of tea extract. *Biosci Biotechnol Biochem.* 2001; 65(2):459-62.
55. Gupta S, Hastak K, Ahmad N, Lewin JS, Mukhtar H. Inhibition of prostate carcinogenesis in TRAMP mice by oral infusion of green tea polyphenols. *PNAS* 2001 98(18):10: 50-10355.
56. Manteiga R, Park DL, Ali SS. Risks associated with consumption of herbal teas. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* 1997;150:1-30.
57. Ramírez Mares MV, Fatell S, Villa-Treviño S, González de Mejía E. Protection of extract from leaves of *Ardisia Compresa* against benomyl-induced cytotoxicity and genotoxicity in cultured rat hepatocytes. *Toxicol in Vitro.* 1999;13(6):889-896.
58. González de Mejía E and Ramírez-Mares MV. Leaf extract from *Ardisia compressa* protects against 1-nitropyrene-induced cytotoxicity and its antioxidant defense disruption in cultured rat hepatocytes. *Toxicology* 2002;179(1):61-72.
59. González de Mejía E, Ramírez-Mares MV, Nair M. Topoisomerase I and II enzyme inhibitory compounds with antioxidant activity from aqueous extract of *Ardisia compressa* leaves against benomyl damaged hepatocytes. Submitted *J Agric Food Chem.* 2002;50(26):7714-7719.
60. Khokhar S, Magnusdottir SG. Total phenol, catechin, and caffeine contents of teas commonly consumed in the United Kingdom. *J Agric Food Chem.* 2002;50(3):565-570.
61. Nijveldt RJ, van Nood E, van Hoorn DE, Boelens PG, van Norren K, van Leeuwen PA. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *Am J Clin Nutr.* 2001;74(4):418-425.
62. Maliakal PP, Coville PF, Wanwimolruk S. Tea consumption modulates hepatic drug metabolizing enzymes in Wistar rats. *J Pharm Pharmacol.* 2001;53(4):569-577.
63. Yu R, Jiao JJ, Duk JL, Gudehithlu K, Tan TH, Kong AN. Activations of mitogen-activated protein kinases by green tea polyphenols: potential signalling pathways in the regulation of antioxidant-responsive element-mediated phase II enzyme gene expression. *Carcinogenesis* 1997;18:451-456.
64. Hibasami H, Achinea Y, Fujikawa J, Komiya T. Induction of programmed cell death (apoptosis) in human lymphoid leukemia cells by catechin compounds. *Anticancer Res.* 1996; 16:1943-1946.
65. Hsu S, Lewis JB, Borke JL, Singh B, Dickinson DP, Caughman GB, Athar M, Drake L, Aiken AC, Huynh CT, Das BR, Osaki T, Schuster GS. Chemopreventive effects of green tea polyphenols correlate with reversible induction of p57 expression. *Anticancer Res.* 2001; 21(6A):3743-3748.
66. Liao S, Hiipakka R. A. Selective inhibition of steroid 5 alpha-reductase isozyme by tea epicatechin-3-gallate and epigallocatechin-3-gallate. *Biochem. Biophys. Res Comm.* 1995;214:833-838.
67. Singh AK, Seth P, Anthony P, Husain MM, Madhavan S, Mukhtar H, Maheshwari RK. Green tea constituent epigallocatechin-3-gallate inhibits angiogenic differentiation of human endothelial cells. *Arch Biochem Biophys.* 2002; 401(1):29-37.
68. Jung YD, Ellis LM. Inhibition of tumour invasion and angiogenesis by epigallocatechin gallate (EGCG), a major component of green tea. *Int J Exp Pathol.* 2001;82(6):309-316.
69. Tosetti F, Ferrari N, De Flora S, Albin A. Angioprevention: angiogenesis is a common and key target for cancer chemopreventive agents. *FASEB J* 2002;16(1):2-14.

70. Pianetti S, Guo S, Kavanagh KT, Sonenshein GE. Green tea polyphenol epigallocatechin-3 gallate inhibits Her-2/neu signaling, proliferation, and transformed phenotype of breast cancer cells. *Cancer Res.* 2002;62(3):652-655.
71. Bachrach U, Wang YC. Cancer therapy and prevention by green tea: role of ornithine decarboxylase. *Amino Acids* 2002; 22(1): 1-13.
72. Jankun J, Selman SH, Swiercz R, Skrzypczak-Jankun E. Why drinking green tea could prevent cancer. *Nature* 1997;387:561.
73. Annabi B, Lachambre MP, Bousquet-Gagnon N, Page M, Gingras D, Beliveau R. Green tea polyphenol (-)-epigallocatechin 3-gallate inhibits MMP-2 secretion and MT1-MMP-driven migration in glioblastoma cells. *Biochim. Biophys. Acta* 2002;1542(1-3):209-220.
74. Lin JK, Liang YC, Lin-Shiau SY. Cancer chemoprevention by tea polyphenols through mitotic signal transduction blockade. *Biochem. Pharmacol.* 1999;58:911-915.
75. Chen W, Dong Z, Valcic S, Timmermann BN, Gowden GT. Inhibition of ultraviolet B-induced *c-fos* gene expression and p38 mitogen-activated protein kinase activation by (-)-epigallocatechin gallate in a human keratinocyte cell line. *Mol Carinog.* 1999;24:79-84.
76. Berger SJ, Gupta S, Belfi CA, Gosky DM, Mukhtar H. Green tea constituent (-)-epigallocatechin-3-gallate inhibits topoisomerase I activity in human colon carcinoma cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2001;288(1):101-105.
77. Ferguson LR. Role of plant polyphenols in genomic stability. *Mut Res.* 2001;475:89-111.

Recibido: 22-08-2002

Aceptado: 03-02-2003

Metabolismo del hierro: conceptos actuales sobre un micronutriente esencial

Jose Boccio, Jimena Salgueiro, Alexis Lysionek, Marcela Zubillaga, Cinthia Goldman, Ricardo Weill y Ricardo Caro

Laboratorio de Radioisótopos, Laboratorio de Isótopos Estables Aplicados a Biología y Medicina,
Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad de Buenos Aires, Argentina

RESUMEN. El hierro es un micronutriente esencial que interviene en numerosos procesos bioquímicos y fisiológicos. En este trabajo se discuten los aspectos más relevantes de su metabolismo con el fin de lograr una mayor comprensión de la importancia que posee este micronutriente sobre la salud humana.

Palabras clave: Hierro, metabolismo, absorción, anemia.

SUMMARY. Iron metabolism: current concepts of an essential micronutrient. Iron is an essential micronutrient involved in multiple biochemical and physiological process. In this review we discuss the most relevant aspect of its metabolism in order to reach a better comprehension of the relevant roll that this micronutrient plays in human health.

Key words: Iron, metabolism, absorption, anaemia.

Antecedentes históricos

El hierro es el metal más abundante en el universo, y el cuarto elemento en frecuencia en la corteza terrestre. Se lo encuentra naturalmente en el suelo, formando parte de diversos minerales, en el agua y en muchos alimentos (1,2).

La coexistencia del hierro con el hombre desde el comienzo de la historia de la humanidad, ha llevado al hombre a darle distintos usos, que van desde la forja del hierro, que significó un hito en la historia de la humanidad, hasta su utilización como medicamento, ya que formó parte de las recetas médicas más antiguas, como en el papiro de Eber en Egipto, 1500 años A.C., donde el óxido férrico era utilizado como unguento para el tratamiento de la calvicie, o en Grecia, 1200 años A.C., donde era mezclado con vino como tratamiento de la impotencia masculina. También Susruta, médico indio contemporáneo de Buda, 500 años A.C., menciona los efectos beneficiosos de distintos preparados de hierro sobre la salud humana (3).

En la Edad Media y Renacimiento, se utilizó al hierro para el tratamiento de ciertas enfermedades, pero sin mucho conocimiento de causa. Recién en el siglo XVI se relacionó la deficiencia de hierro con una enfermedad llamada "enfermedad verde" o clorosis (nombre que se le asignaba a la anemia ferropénica en esa época debido al color verdoso-amarillento que adquiría la piel de quienes la padecían), que afectaba a las mujeres adolescentes y cuyos síntomas eran decaimiento, cansancio y palidez. La primera persona en utilizar el hierro como medicamento específico en el tratamiento de la clorosis fue Sydenham, quien a su vez eliminó las sangrías y purgas que se utilizaban comúnmente en esa época (3,4).

En 1713, Lemery y Geoffry demostraron por primera vez que el hierro se encontraba presente en las cenizas de la sangre, relacionando directamente a este tejido con dicho metal, estableciendo de esta manera las bases científicas en la terapéutica de su deficiencia. En 1832 el médico francés Pierre Blaud inició el tratamiento de la clorosis mediante la administración de hierro por vía oral, utilizando una píldora compuesta por sulfato ferroso y carbonato de potasio, la cual fue denominada "píldora de Blaud". Posteriormente durante muchos años y hasta el último decenio del siglo XIX se siguió tratando la clorosis según los principios de Sydenham y Blaud. Sin embargo, Bunge, uno de los primeros científicos en cuantificar el hierro del organismo y de muchos alimentos, menospreció la píldora de Blaud la cual se venía usando en forma masiva en esa época, ya que al analizar las heces de las personas que consumían dichas píldoras encontró hierro en las mismas, interpretando por lo tanto que el hierro de las píldoras no se absorbía. Además, como consecuencia de las teorías vitalistas imperantes en esa época, Bunge creía que ninguna forma de hierro inorgánica podía ser precursor de la sangre. Si bien la teoría de Bunge fue atacada por numerosos científicos antes que acabara el siglo, en 1920 volvió a tener vigencia cuando Whipple y colaboradores demostraron que el hígado cocido era más eficaz que el carbonato ferroso en la regeneración de la sangre. Sin embargo en 1932, Castle y colaboradores demostraron la eficacia del hierro inorgánico en la regeneración de la hemoglobina, cuando el mismo era administrado por vía parenteral a pacientes con anemia hipocrómica (3,4).

En 1937, McCance y Widdowson, comenzaron a realizar los primeros trabajos sobre balance de hierro, los que sugerían

una absorción y eliminación limitadas de este metal. El mismo año, Heilmeyer y Plotner midieron las concentraciones plasmáticas de hierro y postularon su mecanismo de transporte. Estos estudios fueron completados por Laurell en 1947, quien denominó transferrina a la proteína plasmática de transporte de hierro, nomenclatura utilizada en la actualidad. Recién en 1943, con el advenimiento de las técnicas nucleares aplicadas al estudio del metabolismo humano, Hahn y colaboradores, mediante la utilización de isótopos radioactivos del hierro, pudieron cuantificar su absorción y demostraron la capacidad reguladora que posee la mucosa intestinal en la absorción de este metal, y en 1950, Huff y colaboradores, completan estos estudios determinando la distribución, el metabolismo y el balance del hierro en el organismo humano, conceptos que siguen vigentes en la actualidad (3,4).

Fuentes de hierro

Para comprender el metabolismo del hierro, es necesario conocer en primer término, como se encuentra en los alimentos, ya que los mismos son la fuente primaria y natural de este mineral y la forma en que se encuentre este elemento es un factor primario en el metabolismo de este vital mineral (5).

En los alimentos, el hierro se encuentra formando parte de dos grupos diferentes, uno de hierro hémico y otro de hierro no hémico (2). El hierro de tipo hémico, es el que forma parte de la hemoglobina, mioglobina, citocromos y muchas otras hemoproteínas, que se encuentran principalmente en los alimentos de origen animal. El grupo hemo presente en estas proteínas está formado por un anillo orgánico complejo, llamado protoporfirina, a la que se une un átomo de hierro divalente, el que forma 6 uniones coordinadas; cuatro de ellas se forman con la protoporfirina y de las dos restantes, una lo hace con el nitrógeno de la fracción proteica y la otra queda libre como sitio de unión para una molécula de oxígeno (6).

El hierro de tipo no hémico corresponde a aquel hierro que no se encuentra unido al grupo hemo; básicamente está formado por sales inorgánicas de este metal y el mismo se encuentra principalmente en los alimentos de origen vegetal, como así también en la mayoría de los preparados farmacéuticos utilizados en la terapia contra la deficiencia de este mineral (2,4).

Absorción del hierro

La absorción del hierro ocurre en el duodeno y yeyuno superior del sistema gastrointestinal. En el estómago, si bien no se produce la absorción de este elemento, el mismo contribuye a dicho proceso, a través de la secreción de ácido clorhídrico y enzimas, que ayudan no solo a liberar al hierro de la matriz alimentaria sino también a solubilizarlo, ya que

el ácido clorhídrico favorece la reducción de este catión a la forma ferrosa (7-9).

El proceso de absorción del hierro puede dividirse secuencialmente en las siguientes etapas:

1. Captación: En el lumen intestinal, el hierro ingerido, puede encontrarse en forma no hémica o hémica y dependiendo de ello, el mismo va a ser transferido desde el lumen intestinal hacia el interior del enterocito de diferente manera (10).

El hierro no hémico, para absorberse debe, en una primera etapa, encontrarse en forma soluble, ya que las formas insolubles no pueden ser absorbidas y son eliminadas juntamente con las heces. Las formas ferrosas del hierro son mucho más solubles que las férricas, ya que estas últimas precipitan rápidamente en el medio alcalino del intestino. Es por ello que el hierro que ha sido liberado por acción de las proteasas gástricas y pancreáticas se une a ligandos intraluminales que tienen como función estabilizar la forma ferrosa, manteniendo al hierro soluble y en consecuencia biológicamente disponible para ser captado y transferido al interior del enterocito (5,11).

Si bien existen algunas controversias con respecto a la identificación de este ligante específico, muchos autores concuerdan que podría tratarse de una glucoproteína a la cual han denominado mucina. Sinérgicamente a la función de la mucina hay otros ligadores de hierro de bajo peso molecular como la histidina, el ascorbato y la fructosa que potencian la captación enterocítica del hierro (12-14).

Posteriormente, esta proteína fijadora unida al hierro es captada por y/o cede el hierro que contiene a un transportador específico en la superficie luminal del enterocito llamada integrina. De esta forma el hierro es introducido al interior celular, donde es transferido a ligandos de bajo peso molecular o a una proteína similar a la transferrina llamada por algunos autores mobilferrina (10,11,15-18).

El hierro hémico, es soluble en medios alcalinos, razón por la cual no son necesarios los ligandos intraluminales. Con respecto a su mecanismo de captación existen algunas controversias respecto a la existencia de un transportador o receptor específico para este tipo de hierro. Sin embargo, una vez que este hierro es internalizado en el enterocito el hemo es degradado a hierro, monóxido de carbono y bilirrubina IXa por acción de la enzima hemo oxigenasa. El hierro liberado por este mecanismo se une a ligandos de bajo peso molecular o a una proteína similar a la transferrina, formando junto al hierro no hémico parte del pool común de hierro intracelular del enterocito (5,19,20).

2. Transporte y almacenamiento intra-enterocítico: Una vez que el hierro se encuentra en el interior del enterocito, éste no está libre sino unido a diferentes ligandos.

uno de ellos y tal vez el más relevante, es una proteína capaz de ligar dos átomos de hierro con una alta constante de afinidad y con características similares a la transferrina. A esta proteína se la ha denominado mobilferrina y es homóloga a la calreticulina pudiendo unir además de hierro, otros cationes como calcio, cobre y cinc. El hierro unido a esta proteína es transportado al polo basal del enterocito para ser posteriormente cedido a la transferrina. A la mobilferrina también se le ha asignado un potencial efecto modulador en la regulación de la absorción del hierro, interviniendo de esta forma en uno de los primeros pasos de la homeostasis en el metabolismo de este metal (17,21,22).

El hierro que no ha sido transferido a la transferrina pasa a formar parte de los depósitos intraenterocíticos como ferritina; este hierro muy probablemente se pierda con las heces cuando el enterocito muere y es consecuentemente descamado. Se ha observado que individuos con deficiencia de hierro poseen menor concentración de mRNA para ferritina, siendo estos valores elevados para aquellos individuos en los cuales se provocó una sobrecarga de este metal. De esta forma la ferritina intraenterocítica tendría una importante función en la regulación primaria de la absorción del hierro (5, 23-25).

3. Transferencia al plasma: El hierro que se encuentra en el interior del enterocito y que no se deposita como ferritina, es transferido a la transferrina, la cual lo distribuirá a los diferentes tejidos del organismo. El proceso de transferencia ocurre en el polo basal del enterocito donde, previa a la unión a la transferrina, el hierro debe ser oxidado a su forma férrica. En este proceso de oxidación esta involucrada una enzima cobre dependiente con actividad ferroxidasa I. Según algunos autores la ceruloplasmina estaría involucrada en este proceso; sin embargo existen algunas contradicciones al respecto (26-31).

Factores que modifican la absorción del hierro

La absorción del hierro puede estar afectada por la combinación de diferentes factores, como ser, el tipo de hierro ingerido, el estado nutricional del individuo para este elemento y la presencia de activadores y/o inhibidores de la absorción existentes en el lumen intestinal juntamente con el hierro (32-37).

El hierro de tipo no hémico se encuentra en mayor proporción en la dieta; su absorción será significativamente modificada por el estado nutricional de la persona para este elemento. Así, si un individuo posee sus depósitos agotados, existirá un aumento de la absorción de hierro y, si por el contrario sus depósitos están repletos, existirá una disminución de su absorción. También existen diferentes estados fisiológicos que producen un sustancial incremento en la absorción de este metal, como en el crecimiento y el

embarazo, como consecuencia de un aumento de la síntesis de nuevas biomoléculas que poseen hierro en su estructura (38-40).

Entre los factores que influyen en la absorción del hierro no hémico a nivel del lumen intestinal, tenemos aquellos que producen un aumento en la absorción, que son llamados activadores y aquellos que disminuyen la absorción llamados inhibidores (41).

Entre los activadores de la absorción se encuentran sustancias como el ácido ascórbico, que produce no solo la reducción del hierro a su forma ferrosa, sino también su quelación, manteniendo de esta forma al hierro soluble y biológicamente disponible para ser absorbido. También existen otros ácidos orgánicos que producen un aumento de la absorción de este tipo de hierro, como ser el ácido cítrico, málico y tartárico (36,42-45).

La carne también produce un aumento en la absorción del hierro pero el mecanismo por el cual ocurre aún no ha sido claramente establecido. Sin embargo, existen evidencias experimentales que sugieren que la composición en aminoácidos de las proteínas constitutivas de la carne sería un factor determinante, asignándole a la cisteína y a otros aminoácidos azufrados, como así también a los péptidos que los contienen dicho efecto promotor (46-51).

En los últimos años diversos estudios han demostrado que la vitamina A al igual que los beta-carotenos aumentan la solubilidad del hierro contenido en el alimento, además de disminuir el efecto inhibitorio que provocan los fitatos y polifenoles presentes en la dieta. Si bien, no se ha dilucidado el mecanismo por el cual estos compuestos producen dicho efecto, se supone que podría ocurrir a través de la formación de complejos que mantendrían soluble al hierro en el lumen intestinal, previniendo de esta forma los efectos inhibitorios de los taninos y polifenoles en la absorción del hierro (52-54).

Entre los inhibidores de la absorción se encuentran fundamentalmente los fitatos y taninos que están presentes en los alimentos de origen vegetal. Estos compuestos producen la quelación del hierro dentro del lumen intestinal generando compuestos insolubles de hierro e impidiendo de esta forma que el mismo se encuentre biológicamente disponible para ser absorbido (32,55-59).

Entre las proteínas que inhiben la absorción del hierro no hémico, encontramos una amplia variedad, tanto de origen animal como vegetal. Las proteínas de origen animal que poseen un efecto inhibitorio más significativo son la caseína, las proteínas del suero de la leche, la seroalbúmina bovina y las proteínas de la yema del huevo. De las proteínas de origen vegetal la más importante es una fracción derivada de la proteína de soja denominada 7S congicina, que demostró poseer un efecto inhibitorio sobre la absorción del hierro no hémico similar al producido por los fitatos (47,60-63).

Los fosfatos y el calcio están presentes en muchos alimentos y son potenciales inhibidores de la absorción de hierro. Los fosfatos producen compuestos insolubles, principalmente con los iones férricos, inhibiendo consecuentemente su absorción (59,64-66).

En el caso del calcio existen algunas contradicciones con respecto al grado de inhibición que produce en la absorción del hierro, como así también con respecto al mecanismo por el cual dicho efecto es ejercido. Minotti y col. (1993) estudiaron el efecto inhibitorio de diferentes fuentes de calcio en la absorción del hierro, demostrando que tanto la forma química en la que se encuentra el calcio como el estado fisiológico con respecto al hierro, son factores determinantes en el efecto inhibitorio que produce el calcio sobre la absorción de hierro (67-72).

Otros metales cercanos al hierro en la tabla periódica, potencialmente podrían tener un efecto negativo en la absorción del hierro. De ellos el más significativo es el cinc, ya que es frecuente la utilización de suplementos de cinc y hierro en determinadas condiciones fisiológicas como durante el embarazo y en niños que reciben fórmulas infantiles. Se ha demostrado que el cinc interfiere en la absorción del hierro sólo cuando su concentración molar es muy superior a la del hierro y ambos minerales son suministrados sin ningún alimento. Sin embargo, cuando ambos compuestos se administran en forma conjunta con los alimentos en dosis que están comprendidas dentro de los requerimientos nutricionales diarios, no se ha encontrado ninguna interacción recíproca en la absorción de los mismos (73-79).

En el caso del hierro hémico, si bien su proporción en el alimento es pequeña comparada con la del hierro no hémico, su absorción es elevada, por lo que la fracción en relación al hierro absorbido pasa a ser significativa. La absorción del hierro hémico es poco variable con respecto al estado nutricional del individuo para este mineral y los inhibidores de la absorción del hierro no hémico tienen poco o ningún efecto sobre la biodisponibilidad de este tipo de hierro, a excepción del calcio que produce una disminución estadísticamente significativa de su absorción (41,80).

Transporte plasmático de hierro

El hierro iónico libre es sumamente tóxico, ya que en un medio acuoso rico en oxígeno, puede catalizar diferentes reacciones químicas cuyos productos son nocivos para las diferentes estructuras celulares. Por tal motivo, el hierro en el organismo se encuentra unido a diferentes ligandos (3,81-84).

La principal proteína de transporte plasmático de hierro es la transferrina. Esta es una proteína con un peso molecular de 80 kDa que posee dos sitios de unión para el hierro en su forma férrica y en condiciones fisiológicas normales se encuentra saturada en un 30% (3,85,86).

Esta proteína tiene como función el transporte del hierro desde el polo basal del enterocito hacia los diferentes tejidos

del organismo, con posterioridad a la absorción del hierro. También cumple la función de redistribuir el hierro en el organismo, fundamentalmente desde los depósitos a los tejidos que poseen una mayor demanda de este elemento (87-90).

La síntesis de esta proteína ocurre fundamentalmente en el hígado, aunque otros tejidos como riñón, cerebro, testículo y músculo fetal también sintetizan esta proteína. Si bien las concentraciones plasmáticas de hierro regulan la biosíntesis de la transferrina hepática, no ocurre lo mismo con la transferrina sintetizada en otros tejidos (91-93).

Existen otros ligandos como la hemopexina, ferritina, lactoferrina y los ligandos de bajo peso molecular, aún no del todo caracterizados, que si bien se encuentran en baja proporción, pueden hacer pequeños pero importantes aportes al transporte de hierro entre los tejidos (5,94).

Distribución de hierro en el organismo

La cantidad de hierro total en el organismo es de unos 30 a 40 mg por kilogramo de peso corporal. Este valor es variable y depende de diferentes factores como la edad del individuo, el sexo, el tipo de alimentación y el tejido u órgano estudiado, ya que el hierro no se distribuye homogéneamente en el cuerpo humano (2,4,5).

Desde el punto de vista funcional, el hierro en el organismo puede estar formando parte de dos grandes grupos, el de los compuestos de hierro esencial integrado fundamentalmente por la hemoglobina, mioglobina, citocromos y diferentes enzimas y el de los compuestos de hierro de depósito o almacenamiento como la ferritina y la hemosiderina (2,3,5).

Compuestos de hierro esenciales

Comprendido en este grupo de compuestos, se encuentra la hemoglobina, una de las proteínas que desde el punto de vista cuantitativo es la de mayor preponderancia, ya que contiene más del 65% del hierro total del organismo. Esta se encuentra contenida dentro de los hematíes y su función principal es la de transportar oxígeno desde los pulmones al resto de los tejidos. Esta proteína es un tetrámero formada por 4 cadenas de globina, cada una de ellas con un grupo hemo que contiene un átomo de hierro (2,6,5,95).

La mioglobina, otra proteína con hierro en su estructura, se encuentra en el músculo y está formada por una molécula de globina y un grupo hemo. Esta tiene como función la de transportar y almacenar oxígeno para ser utilizado durante el proceso de contracción muscular. Desde el punto de vista cuantitativo, la mioglobina contiene aproximadamente el 10% del total del hierro del organismo (2,6).

Los citocromos, otro grupo de moléculas con importantes funciones metabólicas, están formados básicamente por una molécula de globina y un grupo hemo. Los mismos se

encuentran principalmente en las mitocondrias y otras organelas celulares. Su función básica es la de intervenir en los procesos de transporte de electrones, como por ejemplo, en las mitocondrias donde intervienen en la producción oxidativa de energía, o en el caso del citocromo P 450 que interviene en los procesos de la degradación oxidativa de compuestos endógenos o de diferentes fármacos (2,4,6,96-100).

En muchas enzimas también podemos encontrar al hierro formando parte de su estructura. En ellas el hierro se puede encontrar bajo la forma de hemo, como en el caso de las catalasas y peroxidasas, o como hierro no hemo, en la deshidrogenasa del dinucleótido de nicotinamida adenina reducido. Si bien el contenido total del hierro en las enzimas representa apenas un 3 %, fisiológicamente su presencia resulta indispensable, ya que dichas enzimas serían metabólicamente inactivas en ausencia de este metal (2, 5, 6, 101-103).

Compuestos de hierro de depósito

El hierro que no es momentáneamente utilizado en los diferentes procesos metabólicos es almacenado. Su cantidad varía entre 0 a 15 mg por kg de peso corporal, siendo dependiente de diversos factores fisiológicos y nutricionales (4,5).

Los principales tejidos de almacenamiento de este metal son el hígado, que contiene el 60% del hierro de depósito, mientras que en las células del sistema reticuloendotelial y el tejido muscular se encuentra el 40% restante. El hierro en los depósitos está unido a proteínas específicas, la ferritina contiene el 95% del hierro hepático mientras que su forma degradada la hemosiderina el 5% restante (2,5,104).

La ferritina es una proteína cuya función consiste en almacenar hierro dentro de la célula. Está formada por 24 subunidades polipeptídicas y posee un peso de 20-22 kDa. Existen dos isoformas, una denominada L, de 20 kDa, que se encuentra fundamentalmente en hígado y la otra denominada H, de 22 kDa, que predomina en el corazón. La biosíntesis de ambas subunidades está regulada por las concentraciones intracelulares de hierro y el stress oxidativo, entre otros factores (105-110).

La ferritina posee la capacidad de contener hasta 4500 átomos de hierro por molécula aunque en condiciones normales se la encuentra saturada en un 20%. El hierro dentro de esta proteína se encuentra almacenado principalmente como fosfato hidratado polimolecular y óxido férrico entre otras formas complejas de compuestos inorgánicos de hierro (111-114).

El hierro, en su forma ferrosa, ingresa a la molécula de ferritina mediante la utilización de poros específicos presentes en la misma; posteriormente en el interior de la molécula, el hierro es oxidado a su forma férrica, en un proceso en el cual la relación estequiométrica del Fe (II) con el O₂ es cercana a

3,8 en presencia de ceruloplasmina. Finalmente, el Fe (III) forma parte del núcleo de cristalización en el interior de la ferritina. Cada una de las cadenas (H y L) de ferritina, cumplen una función cooperativa durante este proceso de incorporación del hierro, teniendo la cadena L mayor capacidad promotora en la formación de los núcleos de cristalización que la cadena H, mientras la cadena H posee mayor capacidad que la cadena L para inducir la oxidación del Fe(II) mediada por la presencia de O₂/ceruloplasmina. Cuando existe la necesidad de liberar hierro desde los depósitos, el hierro, en un primer paso, es reducido a su forma ferrosa en el interior de la molécula de ferritina, para posteriormente ser liberado a través de los poros de la misma. En este proceso de reducción existen evidencias que involucrarían al ácido ascórbico y al mononucleótido de flavina reducido, como mediadores de dicho proceso (109, 114-120).

Cuando el contenido de hierro de la molécula de ferritina es de aproximadamente unos 4000 átomos por molécula, la misma es degradada por las enzimas lisosomales para formar la hemosiderina. Esta proteína es insoluble y posee un contenido de hierro de aproximadamente un 40% de su peso, con una composición que corresponde a formas químicas del hierro menos reactivas que las presentes en las moléculas de ferritina (82,109,112,121,122).

Ciclo biológico del hierro

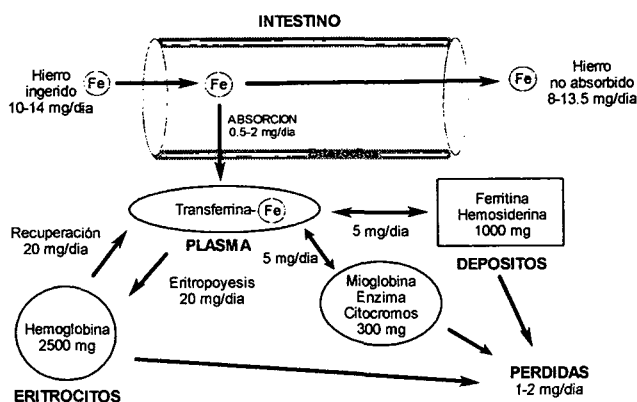
En condiciones normales, la cantidad de hierro ingerida es de aproximadamente unos 10-14 mg por día. En el duodeno y en la porción superior del intestino delgado se absorben unos 0,5 a 2 mg, dependiendo de diferentes factores; así por ejemplo, la absorción es de aproximadamente 1mg por día para un hombre adulto y de unos 2 mg por día para una mujer en edad reproductiva, ya que sus requerimientos son superiores como consecuencia de las mayores pérdidas ocasionadas por los sangrados menstruales (4,5).

Una vez que el hierro es absorbido por los enterocitos de la mucosa intestinal, éste pasa a plasma donde es transportado por la transferrina a los diferentes tejidos y órganos. Como se observa en la figura 1, la mayor recirculación interna del hierro ocurre entre el plasma, las células del sistema reticuloendotelial y la médula ósea eritroide, donde en esta última, son sintetizados los eritrocitos para posteriormente ser liberados a circulación (123,124).

En el ser humano, los glóbulos rojos han cumplido con su vida útil luego de unos 120 días de vida, razón por la cual son reconocidos por las células del sistema reticuloendotelial como eritrocitos viejos y son destruidos. En este proceso, la fracción proteica de la hemoglobina es degradada en sus aminoácidos constitutivos y el grupo hemo es degradado por acción de la hemoxigenasa, liberando al hierro. La mayor parte de este hierro es rápidamente liberado al plasma donde

la transferrina lo transporta hasta la médula eritroidea para ser reutilizado en la biosíntesis de nuevas moléculas de hemoglobina, que posteriormente son incorporadas a los eritrocitos nuevos (2,5,125).

FIGURA 1
Ciclo biológico del hierro. Distribución e intercambio entre los distintos compartimentos.



Fuente: Finch y col. (123).

La transferrina también transporta al hierro a otros tejidos que necesitan este metal para la realización de los distintos procesos metabólicos, ya que muchas biomoléculas presentes en ellos, como la mioglobina, citocromos y algunas enzimas requieren hierro en su estructura para ser metabólicamente activas. En este caso la velocidad de recambio entre el hierro de estas estructuras y el plasma es muy variable y su esperanza de vida depende principalmente de la velocidad de recambio de la estructura subcelular a la que están asociadas (2,126).

Con la finalidad de mantener las concentraciones plasmáticas de hierro dentro de un rango constante, existe un intercambio permanente de hierro entre la transferrina y los depósitos de hierro, formados por la ferritina y la hemosiderina, así, luego de una ingesta abundante de este metal la transferrina transportará una cantidad significativa de hierro a los órganos de depósitos, si por el contrario, existe una demanda de dicho metal por algún tejido, la transferrina tomará hierro de los depósitos para transferirlo a dicho tejido (126,127).

En el caso particular del hierro, y a diferencia de lo que ocurre con el resto de los minerales trazas, la homeostasis de este elemento en el organismo es regulada a través de su absorción y no de su eliminación o excreción. Sin embargo, existen pérdidas de este metal a través de enterocitos que se descaman, de eritrocitos extravasados, productos biliares de la degradación del hemo, etc. Se calcula que estas pérdidas para el hombre adulto y las mujeres postmenopáusicas son

de alrededor de 1 mg por día, mientras que para las mujeres en edad reproductiva y como consecuencia de los sangrados menstruales, estos valores oscilan entre 1,5 mg a 2 mg de hierro por día, en promedio, dependiendo en muchos casos del método anticonceptivo que se utilice, ya que se sabe que los dispositivos intrauterinos aumentan el sangrado y en consecuencia las pérdidas de hierro, mientras que los anticonceptivos orales reducen esta pérdidas (3,128-132).

Por otra parte, el embarazo está asociado con un costo de aproximadamente 1 g de hierro, lo que produce una pérdida de hierro significativa para el organismo, sobre todo en los casos de embarazos repetidos. También existen otras situaciones particulares en las cuales existen pérdidas de hierro, como en el caso de las hemorragias, infección por parásitos hematófagos, utilización de algunas drogas antiinflamatorias no esteroideas, donaciones de sangre, etc (4,5).

Metabolismo celular del hierro

La captación celular del hierro se efectúa mediante un receptor de transferrina (RTf). El receptor de transferrina es una glucoproteína con un peso molecular de 180 kDa, que está constituido por dos subunidades iguales de 95 kDa, cada una de las cuales posee 760 aminoácidos y están unidas por dos puentes disulfuro (133,134).

Cada subunidad tiene la capacidad de unir una molécula de transferrina. La afinidad del RTf es sustancialmente mayor para la transferrina diférrica que para la apotransferrina, siendo sus constantes de disociación (Kd) de $1,1 \times 10^{-8}$ M y $4,6 \times 10^{-6}$ M respectivamente. Sin embargo, la concentración plasmática de transferrina es del orden de $30-40 \times 10^{-6}$ M; esta situación implica que a dicha concentración los RTf de la superficie celular se encuentran saturados. Por ello la captación celular del hierro está regulada por el número de RTf presentes en la superficie, valor que dependerá del estado intracelular para el hierro. Así por ejemplo, aquellos tejidos metabólicamente activos, donde aumentan los requerimientos intracelulares de hierro existirá un mayor número de RTf en la superficie celular, valor que aumentará ya sea a través de la síntesis de nuevos RTf o por aumento en la velocidad de translocación de dicho receptor. De esta manera aproximadamente 1/3 de la masa total de los RTf está presente en la superficie de la célula (135-138).

Una vez que la transferrina que posee hierro (TfFe) se une al RTf en la superficie de la célula, el complejo RTf-TfFe es captado por la célula por endocitosis. En este proceso la fracción citoplasmática del receptor juega un rol esencial en el proceso de internalización del complejo RTf-TfFe, estando este proceso de internalización regulado por la activación de la proteína quinasa C. Dentro del endosoma existe un cambio de pH a valores cercanos a 5,5 mediado por una bomba de protones ATP-dependiente, que produce

una disminución de la afinidad de la transferrina por el Fe. También existe una unión de Cl^- a un sitio de fijación de aniones del complejo que facilita la separación del Fe, como así también existe un proceso reductivo del hierro férrico a su forma ferrosa, que disminuye aún más la afinidad de la transferrina por este metal. Este último proceso puede estar mediado por el ácido ascórbico o enzimáticamente a través de una enzima endosomal NADH dependiente. Recientemente se ha demostrado que los grupos fosfato y pirofosfato también facilitan la liberación del hierro unido a la transferrina. Este efecto se ha observado no solo a pH ácido sino también a pH de 7,4, evidenciando de esta forma un mecanismo secundario de liberación del hierro del complejo RTf-TfFe. Por otra parte, se ha observado que la liberación del primer átomo de hierro por la transferrina diférrica produce un cambio en la estabilidad del complejo RTf-TfFe como consecuencia de la interacción transferrina-receptor que desestabiliza la unión del átomo de hierro restante, facilitando de esta manera la liberación del mismo (88,139-152).

Posteriormente, la fracción del endosoma que contiene hierro se separa y el hierro de su interior es transferido al citoplasma de la célula, este proceso aparentemente podría estar mediado por la bomba de protones ATP-dependiente. Una vez que el hierro se encuentra en el citoplasma éste se une a proteínas fijadoras de hierro o a ligandos de bajo peso molecular. Este hierro, posteriormente se podrá unir a las proteínas reguladoras de hierro, integrarse a las estructuras de las proteínas que poseen hierro o formar parte de los depósitos celulares de este metal (5,153-156).

La otra parte del endosoma que contiene el complejo apoTf-RTf se dirige al aparato de Golgi para ser empacado junto a RTf recién sintetizados. Estas vesículas se dirigen a la membrana de la célula con la que se fusionan poniendo en contacto los complejos apoTf-RTf con el espacio extracelular. A pH del espacio extracelular (7,4) disminuye sustancialmente la afinidad del RTf por la apoTf y esta última es liberada para que pueda cumplir nuevamente sus funciones. Este ciclo dura aproximadamente unos 10 minutos y el mismo puede repetirse unas 100 veces hasta que la transferrina o su receptor sean degradados (5).

Funciones bioquímicas y fisiológicas

Las principales funciones biológicas que posee el hierro, se basan en sus propiedades oxidoreductoras, ya que los estados de oxidación del hierro van desde -2 a $+6$, la interconversión entre estos estados de oxidación le otorgan a este elemento propiedades fisicoquímicas particulares que le permite participar en la transferencia de electrones como así también la de unirse en forma reversible a diferentes ligandos como ser los átomos de oxígeno, nitrógeno y azufre. Esta característica le confiere a este elemento propiedades

biológicas especiales que le permite participar en un gran número de procesos bioquímicos, generalmente a través de su asociación con diversas biomoléculas, especialmente las proteínas, muchas de las cuales poseen actividad enzimática (1,2,5).

Entre las proteínas que se encuentran asociadas con este elemento están aquellas que contienen hierro en su estructura como: la hemoglobina y la mioglobina; enzimas que contienen hierro ligado a azufre; enzimas que contienen hierro bajo la forma de hemo y enzimas que contienen hierro pero no bajo la forma hemo, ni asociada al azufre (5,3,6).

Estas características particulares del hierro, sumadas a la gran variedad y diversidad de estructuras biológicas a las cuales se encuentra asociado, hace que este elemento intervenga en múltiples y vitales procesos bioquímicos y fisiológicos como por ejemplo: el transporte y almacenamiento de oxígeno a través de la hemoglobina; en el metabolismo muscular, al formar parte de la mioglobina que permite el pasaje del oxígeno desde los eritrocitos a las mitocondrias del músculo. Bajo la forma de hemo forma parte del sitio activo de los citocromos, los que intervienen en múltiples y variadas vías metabólicas como las relacionadas con el metabolismo energético, con el sistema enzimático microsomal P-450, el que participa en la síntesis de diversos esteroides como la aldosterona, corticosterona, pregnenolona, vitamina D_3 , etc. Este sistema también interviene en la degradación de distintos metabolitos, drogas, fármacos y diferentes sustancias tóxicas. Por otra parte, el hierro, al formar parte de casi todas las oxidasas de los mamíferos, demuestra la variedad de procesos metabólicos y fisiológicos en los cuales este elemento está involucrado (3-5, 98,157, 158).

Parámetros bioquímicos relacionados con el estado del hierro

Existen diferentes parámetros que están relacionados con el metabolismo del hierro y que reflejan el estado del organismo para este elemento. Entre los de mayor relevancia se encuentran:

Hemoglobina: La hemoglobina es el pigmento rojo que se encuentra en los hematíes, cuya función principal está relacionada con el transporte de oxígeno. Siendo el hierro un componente esencial de la misma su contenido variará de acuerdo con el estado para este elemento. Así, por ejemplo, una concentración baja de hemoglobina produce hipocromía, la cual es una característica relacionada con la anemia por deficiencia de hierro. El uso de la hemoglobina como un indicador del estado del hierro posee algunas limitaciones debido a que existen determinadas condiciones que afectan la misma, como en el caso de la deshidratación, procesos inflamatorios crónicos, policitemia, hábito de fumar,

infección crónica, hemorragias, deficiencia de vitamina B₁₂ y ácido fólico, malnutrición proteico-energética, embarazo y hemoglobinopatías. Al considerar los valores normales para este parámetro es necesario tener en cuenta las variaciones existentes que dependen de la edad, el sexo y la raza de la persona, ya que estos valores presentan pequeñas pero significativas variaciones en cada caso en particular (159,160).

Hematocrito: El hematocrito es determinado en sangre total mediante la utilización de capilares heparinizados, luego de ser centrifugados hasta obtener un paquete celular de volumen constante. El valor del hematocrito se expresa como porcentaje del paquete de células rojas, valor que se obtiene por comparación de la altura del paquete de células rojas con respecto a la altura total de la columna formada por células rojas y plasma. Los valores normales del hematocrito están tabulados y dependen de la edad, sexo y raza del individuo (159). La utilización del hematocrito para determinar el estado del hierro posee algunas desventajas como consecuencia de la baja sensibilidad y especificidad que posee el método, ya que al igual que en el caso de la determinación de la concentración de la hemoglobina, el mismo es afectado por diferentes factores. Otra desventaja de este método es la falta de precisión, especialmente cuando se utilizan muestras obtenidas de sangre capilar. Sin embargo pese a estas limitaciones, el hematocrito tiene como ventaja el de ser un método económico, simple y rápido (159,160).

Índices eritrocitarios: Estos índices están constituidos por: el volumen corpuscular medio (VCM), la hemoglobina corpuscular media (HCM) y la concentración corpuscular media de hemoglobina (CCMH). Estos parámetros sirven para determinar el tamaño, el contenido y la concentración de hemoglobina de los glóbulos rojos, pudiéndose calcular a partir de la determinación de los valores de concentración de hemoglobina, hematocrito y número de glóbulos rojos. El VCM es el volumen medio de los eritrocitos y se calcula como la relación entre el valor del hematocrito y el número de células rojas. La HCM es el contenido promedio de hemoglobina de los eritrocitos y se calcula como la relación entre el valor de la concentración de hemoglobina y el número de células rojas. La CCMH es la concentración media de hemoglobina en un volumen determinado de glóbulos rojos y se calcula como la relación entre la concentración de hemoglobina y el valor del hematocrito. Los valores normales de estos parámetros están tabulados y varían fundamentalmente en función de la edad y el sexo del individuo. Las desviaciones de estos parámetros con respecto a sus valores normales son especialmente útiles para la caracterización de los distintos tipos morfológicos de anemias (159,160).

Ferremia, capacidad de fijación de hierro total (CFHT) y porcentaje de saturación de transferrina: La ferremia y la CFHT son parámetros que se relacionan con el intercambio de hierro entre el sistema reticuloendotelial y la médula ósea. La transferrina es la principal proteína relacionada con el transporte de hierro en sangre. Como consecuencia de ello, el contenido de hierro en el suero refleja el número de átomos de hierro unidos a la transferrina. Cada molécula de transferrina puede unir hasta dos átomos de hierro, razón por la cual la CFHT está relacionada con la fracción de sitios libres que posee la transferrina para el transporte de hierro; en consecuencia el porcentaje de saturación de la transferrina puede calcularse como la relación entre la ferremia y la CFHT multiplicada por 100. Estos tres parámetros son particularmente útiles para diferenciar los estados deficitarios de hierro de causas nutricionales con respecto de aquellos que son consecuencia de diferentes patologías, asociadas a procesos de infección e inflamación crónicos. Los valores normales para estos parámetros están tabulados y dependen fundamentalmente de la edad y sexo del individuo. Sin embargo es necesario tener en cuenta que diversos factores como las variaciones circadianas, el uso de contraceptivos orales, enfermedades crónicas y otros factores pueden modificar los valores de los mismos (159, 160).

Ferritina sérica: La ferritina sérica se encuentra en equilibrio con su forma intra-celular y es proporcional al contenido de hierro de los depósitos. Existe una relación entre el contenido de hierro de los depósitos y las concentraciones séricas de ferritina. Así, aproximadamente unos 8-10 mg de hierro en los depósitos es equivalente a 1 µg/l de ferritina sérica. Diferentes factores como la infección aguda o crónica, deficiencia de vitamina B₁₂ y ácido fólico, consumo excesivo de alcohol, leucemia, enfermedades hepáticas, etc., producen un aumento significativo de este parámetro. Sin embargo, los valores bajos de ferritina sérica, menores a 12 µg/l, están asociados a un déficit de hierro en los depósitos, no habiéndose detectado valores falsamente reducidos como consecuencia de otra causa. Los valores normales de ferritina sérica se encuentran tabulados y dependen fundamentalmente de la edad y sexo de la persona. Sin embargo, es importante destacar que existe un significativo coeficiente de variación intra-individual de aproximadamente un 15% de las concentraciones de este parámetro (159,160).

Protoporfirina eritrocitaria: Las bases fisiológicas de la utilización de la concentración de la protoporfirina eritrocitaria para evaluar el metabolismo del hierro se basa en que la protoporfirina IX es el precursor del hemo. En condiciones normales la concentración de protoporfirina eritrocitaria en los hematíes es baja pero cuando disminuye la cantidad de hierro disponible para la síntesis de

hemoglobina ésta aumenta proporcionalmente con la disminución de la disponibilidad de este metal. La determinación de protoporfirina eritrocitaria se realiza en sangre total mediante fluorimetría y se expresa en $\mu\text{g/dl}$ o $\mu\text{mol/l}$ de células rojas. Los valores normales dependen de diversos factores como la edad, sexo y raza del individuo. Si bien un aumento en la concentración de protoporfirina eritrocitaria está asociada a un estado deficitario de hierro, existen otros factores como ciertas enfermedades crónicas, como infección, inflamación y cáncer, que están asociados con niveles elevados de protoporfirina eritrocitaria. También en el caso de intoxicación por plomo se produce un aumento de la concentración de protoporfirina eritrocitaria como consecuencia de la interferencia que produce este metal en la síntesis del hemo. Teniendo en cuenta estas consideraciones, la determinación de la concentración de protoporfirina eritrocitaria es considerada un método simple y económico para evaluar el metabolismo del hierro (159, 160).

Receptor a transferrina: La concentración plasmática de este receptor varía con el estado nutricional de hierro de la persona, aumentando en la deficiencia leve de este metal. También se observa un aumento de la concentración de este receptor en ciertas patologías como en el caso de la β -talasemia, anemia hemolítica autoinmune, leucemia linfocítica crónica, etc. Sin embargo, la concentración de este parámetro disminuye en el caso de hemocromatosis, anemia aplásica e insuficiencia renal crónica. A diferencia de lo que ocurre con los otros parámetros utilizados en la determinación del estado de hierro, la concentración de este receptor, no está significativamente afectada por la inflamación, infección o enfermedad hepática, por lo que la utilidad clínica de la determinación del receptor a transferrina radica en la utilización del mismo para diferenciar la anemia por deficiencia de hierro con respecto a otros tipos de anemia, principalmente en los países y regiones donde la prevalencia de infecciones es elevada. Recientemente, el uso de este parámetro bioquímico para determinar el estado del hierro durante el embarazo demostró ser el mejor estimador para detectar la deficiencia de hierro durante este período (5, 161-163).

Variación de los parámetros bioquímicos asociados al estado de hierro

En la Tabla 1 podemos observar las variaciones que ocurren en los parámetros bioquímicos asociados al metabolismo del hierro durante el desarrollo progresivo de la deficiencia de hierro hasta llegar a la anemia.

En una primera etapa se produce una disminución del contenido de hierro de los depósitos orgánicos, lo que se ve reflejado en una disminución de la concentración sérica y/o plasmática de ferritina.

TABLA 1
Etapas secuenciales del desarrollo progresivo de la deficiencia de hierro

Parámetro	Normal	Etapa I Depleción de hierro	Etapa II Eritropoyesis con deficiencia de hierro	Etapa III Anemia ferropénica
Hierro médula ósea RE	2-3 +	0-1 +	0	0
CFHT ($\mu\text{g/dl}$)	330 \pm 30	360	390	> 410
Ferritina Plasmática ($\mu\text{g/l}$)	100 \pm 60	20	10	< 10
Absorción de hierro (%)	5-10	10-15	10-20	10-20
Ferremia ($\mu\text{g/dl}$)	115 \pm 50	115	< 60	< 40
Saturación de transferrina(%)	35 \pm 15	30	< 15	< 15
Protoporfirina libre eritrocitaria ($\mu\text{g/dl}$, CR)	30	30	100	> 200
Eritrocitos (morfología)	Normal	Normal	Normal	Microcíticos hipocrómicos

RE: retículo endotelial. CFHT: capacidad de fijación de hierro total. CR: células rojas.

Fuentes: Goldman y col (4), Herbert y col. (164).

En una segunda etapa de la deficiencia de hierro, se produce una disminución de la concentración plasmática de hierro, inferior a los 60 $\mu\text{g/dl}$, juntamente con un aumento en la capacidad de fijación de hierro total y en consecuencia una disminución en el porcentaje de saturación de transferrina inferior al 15%. Al mismo tiempo, como consecuencia de un insuficiente suministro de hierro para la síntesis del hemo, se produce un aumento de la concentración de protoporfirina libre eritrocitaria superior a los 100 $\mu\text{g/dl}$ de células rojas. Sin embargo, en esta etapa aun no se observa una modificación significativa de la concentración de hemoglobina, valor que permanece comprendido dentro del rango normal según sexo y edad.

Finalmente en la tercera y última etapa, se produce la anemia por deficiencia de hierro, que se caracteriza por una franca disminución de la concentración de hemoglobina y del hematocrito, que se ve reflejado a nivel eritrocitario como hipocromía con microcitos y una disminución en la capacidad de fijación de hierro total. Esta etapa también se caracteriza por una disminución en la concentración del hierro

plasmático, (inferior a los 40 µg/dl), de ferritina, (por debajo de los 10 µg/dl) y un sustancial aumento de la concentración de la protoporfirina libre eritrocitaria, (por encima de los 200 µg/dl de células rojas). También en esta etapa se produce un gran aumento de la capacidad de fijación de hierro total siendo superior a los 410 µg/dl (159).

De esta forma podemos observar que la falta de una ingesta adecuada de hierro absorbible acorde con las demandas fisiológicas y/o metabólicas del organismo, puede provocar un estado inicial de deficiencia de hierro, que de no ser corregida, puede llegar a producir anemia por deficiencia de hierro.

CONCLUSION

Este trabajo si bien no es una revisión completa de todos los aspectos bioquímicos y nutricionales del hierro; el mismo trata de comprender los aspectos metabólicos más relevantes de este mineral esencial, con el fin de estimular a los diferentes profesionales en el campo de la ciencia y la salud a una mayor comprensión de la importancia que posee este micronutriente esencial sobre la salud humana.

REFERENCIAS

1. Fernández H. Elementos de grupo VIII. Química general e inorgánica. Ed. Losada. Buenos Aires. Argentina. 1978.
2. Dallman P. Iron. Present knowledge in nutrition. Sixth edition. International Life Sciences Institute. ILSI. North America. 1990^a.
3. Castro del Pozo S. Metabolismo del hierro normal y patológico. Segunda edición. Masson. Barcelona. España. 1995.
4. Goodman Gilman. The pharmacological basis of therapeutics. Pergamon Press Inc. New York. USA. 1996.
5. Beard J, Piñero D. Metabolismo del Hierro. Deficiencia de hierro. CESNI. Buenos Aires. Argentina. 1997;13-47.
6. Lehninger A, Nelson D, Cox M. Principles of biochemistry. Worth Publishers, Inc. New York. USA. 1995.
7. Skikne B, Lynch S, Cook J. Role of gastric acid in food iron absorption. *Gastroenterology*. 1981;81:1068-1071.
8. Carpenter C, Mahoney A. Contributions of heme and nonheme iron to human nutrition. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 1992.;31:333-367.
9. Hernández García M. Anemia ferropénica. *Medicine*. 1993;10:545-554.
10. Conrad M, Umbreit J, Moore E. Iron absorption and transport. *Am J Med Sci*. 1999;318:213-229.
11. Raja K, Simpson R, Peters T. Comparison of ⁵⁹Fe³⁺ uptake in vitro and in vivo by mouse duodenum. *Biochem. Biophys. Acta*. 1987.;901:52-60.
12. Conrad M, Umbreit J, Moore E. A role of mucin in the absorption of inorganic iron and other metal cations. A study in rats. *Gastroenterology*. 1991;100:129-136.
13. Ohta A, Ohtsuki M, Baba S, Takizawa T, Adachi T, Kimura S. Effects of fructooligosaccharides on the absorption of iron, calcium and magnesium in iron-deficient rats. *J Nutr Sci Vitaminol*. 1994;41:281-291.
14. Hofman A. Regulation of metal absorption in the gastrointestinal tract. *Gut*. 1996;39:625-628.
15. Stremmel W, Lotz G, Niederau C, Teschke R, Strohmeyer G. Iron uptake by rat duodenal microvillous membrane vesicles: evidence for a carrier mediated transport system. *Eur J Clin Invest*. 1987;17:136-145.
16. Teichmann R, Stremmel W. Iron uptake by human upper small intestine microvillous membrane vesicles. Indication for a facilitated transport mechanism mediated by a membrane iron-binding protein. *J Clin Invest*. 1990;86:2145-2153.
17. Conrad M, Umbreit J, Peterson R, Moore E, Harper K. Function of integrin in duodenal mucosal uptake of iron. *Blood*. 1993;81:517-521.
18. Ikeda Y, Orimo H, Hisayasu S, Yoshino Y. Characteristics of iron binding to solubilize brush border membrane of the rat intestine *J Nutr Sci Vitaminol*. 1995;41:419-432.
19. Raffin S, Woo C, Roost K, Price D, Schmid R. Intestinal absorption of hemoglobin hemo iron cleavage by mucosal hemo oxygenase. *J Clin Invest*. 1974;54:1344-1352.
20. Uzel C, Conrad M. Absorption of heme iron. *Sem Hematol*. 1998;35:27-34.
21. Conrad M, Umbreit J, Moore E. Rat duodenal iron-binding protein mobilferrin is a homologue of calreticulin. *Gastroenterology*. 1993;104:1700-1704.
22. Conrad M, Umbreit J, Moore E. Regulation of iron absorption: proteins involved in duodenal mucosal uptake and transport. *J Am Coll Nutr*. 1993;12:720-728.
23. Whittaker P, Skikne B, Covell A, Flowers C, Cooke A, Lynch S, Cook J. Duodenal iron proteins in idiopathic hemochromatosis. *J Clin Invest*. 1989;83:261-267.
24. Pietrangelo A, Rocchi E, Casalgrandi G, Rigo G, Ferrari A, Pirini M, Ventura E, Cairo G. Regulation of transferrin, transferrin receptor, and ferritin genes in human duodenum. *Gastroenterology*. 1992;102:802-809.
25. Pietrangelo A, Casalgrandi G, Quaglino D, Gualdi R, Conte D, Milani S, Montosi G, Cesarini L, Ventura E, Cairo G. Duodenal ferritin synthesis in genetic hemochromatosis. *Gastroenterology*. 1995;108:208-217.
26. Bakker G, Boyer R. Iron incorporation into apoferritin. The role of apoferritin as a ferroxidase. *J Biol Chem*. 1986;28:13182-13185.
27. Wollenberg P, Mahlberg R, Rummel W. The valency state of absorbed iron appearing in the portal blood and ceruloplasmin substitution. *Biol Met*. 1990;3:1-7.
28. Mukhopadhyay C, Attieh Z, Fox P. Role of ceruloplasmin in cellular iron uptake. *Science*. 279:714-717.
29. Urbanowski J, Piper R. The iron transporter Fth1p forms a complex with the Fet5 iron oxidase and resides on the vacuolar membrane. *J Biol Chem*. 1999;274:38061-38070.
30. Wessling-Resnick M. Biochemistry of iron uptake. *Crit Rev Biochem Mol Biol*. 1999;34:285-314.
31. Richardson D. Role of ceruloplasmin and ascorbate in cellular iron release. *J Lab Clin Med*. 1999;134:454-465.
32. Bezwoda W, Torrance J, Bothwell T, MacPhail A, Graham B, Mills W. Iron absorption from red and white wines. *Scand J Haematol*. 1985;34:121-127.

33. Charlton R, Bothwell T. Iron absorption. *Ann Rev Med.* 1993;34:55-68.
34. Bothwell T, Baynes R, MacFarlane B, MacPhail A. Nutritional iron requirements and food iron absorption. *J Intern Med.* 1989;226:357-365.
35. Schumann K, Elsenhans B, Ehtechami C, Forth W. Rat intestinal iron transfer capacity and the longitudinal distribution of its adaptation to iron deficiency. *Digestion.* 1990;46:35-45.
36. Siegenberg D, Baynes R, Bothwell T, Macfarlane B, Lamparelli R, Car N, MacPhail P, Schmidt U, Tal A, Mayet F. Ascorbic acid prevents the dose-dependent inhibitory effects of polyphenols and phytates on nonheme-iron absorption. *Am J Clin Nutr.* 1991;53:537-541.
37. Reddy M, Hurrell R, Cook J. Estimation of nonheme-iron bioavailability from meal composition. *Am J Clin Nutr.* 2000;71:937-943.
38. Bezwoda W, Bothwell T, Torrance J, MacPhail A, Charlton R, Kay G, Levin J. The relationship between marrow iron stores, plasma ferritin concentrations and iron absorption. *Scand J Haematol.* 1979;22:113-120.
39. Cook J. Adaptation in iron metabolism. *Am J Clin Nutr.* 1990;51:301-308.
40. Hulten L, Gramatkovski E, Gleerup A, Hallberg L. Iron absorption from the whole diet. Relation to meal composition, iron requirements and iron stores. *Eur J Clin Nutr.* 1995;49:794-808.
41. Lynch S. Absorción de hierro: interacción con otros nutrientes. Deficiencia de hierro. CESNI. Buenos Aires. Argentina. 1997;49-65.
42. Derman D, Bothwell T, MacPhail A, Torrance J, Bezwoda W, Charlton R, Mayet F. Importance of ascorbic acid in the absorption of iron from infant foods. *Scand J Haematol.* 1980;25:193-201.
43. Derman D, Bothwell T, Torrance J, Bezwoda W, MacPhail A, Kew M, Sayers M, Disler P, Charlton R. Iron absorption from maize (*Zea mays*) and Sorghum (*Sorghum vulgare*) beer. *Br J Nutr.* 1980;43:271-279.
44. Ballot D, Baynes R, Bothwell T, Gillooly M, MacFarlane B, MacPhail A, Lyons G, Derman D, Bezwoda W, Torrance J. The effects of fruit juices and fruits on the absorption of iron from a rice meal. *Br J Nutr.* 1987;57:331-343.
45. Lynch S. Interaction with other nutrients. *Nutr Rev.* 1997;55:102-110.
46. Martinez-Torres C, Romano E, Layrisse M. Effect of cysteine on iron absorption in man. *Am J Clin Nutr.* 1981;34:322-327.
47. Kane A, Miller D. In vitro estimation of the effects of selected proteins on iron bioavailability. *Am J Clin Nutr.* 1984;39:393-401.
48. Layrisse M, Martinez-Torres C, Leets I, Taylor P, Ramirez J. Effect of histidine, cysteine, glutathione or beef on iron absorption in humans. *J Nutr.* 1984;114:217-223.
49. Lynch S, Dassenko S, Mork T, Beard J, Cook J. Soy protein products and heme iron absorption in humans. *Am J Clin Nutr.* 1985;41:13-20.
50. Taylor P, Martinez-Torres C, Romano E, Layrisse M. The effect of cysteine-containing peptides related during meat digestion on iron absorption in humans. *Am J Clin Nutr.* 1986;43:68-71.
51. Hurrell R, Lynch S, Trinidad T, Dassenko S, Cook J. Iron absorption in humans: bovine serum albumin compared with beef muscle and egg white. *Am J Clin Nutr.* 1988;47:102-107.
52. Suharno D, West C, Muhila L, Karyadi D, Hautvast J. Supplementation with vitamin A and iron for nutritional anaemia in pregnant women in West Java, Indonesia. *Lancet.* 1993;342:1325-1328.
53. García-Casal M, Layrisse M, Solano L, Baron M, Arguello F, Llovera D, Ramirez J, Leets I, Tropper E. Vitamin A and beta-carotene can improve nonheme iron absorption from rice, wheat and corn by humans. *J Nutr.* 1998;128:646-650.
54. García-Casal M, Leets I, Layrisse M. Beta-carotene and inhibitors of iron absorption modify iron uptake by Caco-2 cells. *J Nutr.* 2000;130:5-9.
55. Disler P, Lynch S, Charlton R, Torrance J, Bothwell T, Walker R, Mayet F. The effect of tea on iron absorption. *Gut.* 1975;16:193-200.
56. Cook J, Noble N, Morck T, Lynch S, Petersburg S. Effect of fiber on nonheme iron absorption. *Gastroenterology.* 1983;85:1354-1358.
57. Gillooly M, Bothwell T, Charlton R, Torrance J, Bezwoda W, MacPhail A, Derman D, Novelli L, Morrall P, Mayet F. Factors affecting the absorption of iron from cereals. *Br J Nutr.* 1984;51:37-46.
58. Reddy M, Hurrell R, Juillerat M, Cook J. The influence of different protein sources on phytate inhibition of nonheme-iron absorption in humans. *Am J Clin Nutr.* 1996;63:203-207.
59. Sandberg A, Brune M, Carlson N, Hallberg L, Skoglund E, Rosander-Hulthen L. Inositol phosphates with different numbers of phosphate groups influence iron absorption in humans. *Am J Clin Nutr.* 1999;70:240-246.
60. Derman D, Ballot D, Bothwell T, MacFarlane B, Baynes R, MacPhail A, Gillooly M, Bothwell J, Bezwoda W, Mayet F. Factors influencing the absorption of iron from soy-bean protein products. *Br J Nutr.* 1987;57:345-353.
61. Hurrell R, Furniss D, Burri J, Whittaker P, Lynch S, Cook J. Iron fortification of infant cereals: a proposal for the use of ferrous fumarate or ferrous succinate. *Am J Clin Nutr.* 1989;49:1274-1282.
62. Hurrell R, Jullerat M, Reddy M, Lynch S, Dassenko S, Cook J. Soy protein, phytate, and iron absorption in humans. *Am J Clin Nutr.* 1992;56:573-578.
63. Lynch S, Dassenko S, Cook J, Jullerat M, Hurrell R. Inhibitory effect of a soybean-protein-related moiety on iron absorption in humans. *Am J Clin Nutr.* 1994;60:567-572.
64. Monsen E, Cook J. Food iron absorption in human subjects IV. The effects of calcium and phosphate salts on the absorption of nonheme iron. *Am J Clin Nutr.* 1976;29:1142-1148.
65. Brune M, Rossander-Hulten L, Hallberg L, Gleerup A, Sandberg A. Iron absorption from bread in humans: inhibiting effects of cereal fiber, phytate and inositol phosphates with different numbers of phosphate groups. *J Nutr.* 1992;122:442-449.
66. Jackson L, Lee K. The effect of dairy products on iron bioavailability. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 1992;31:259-270.
67. Cook J, Dassenko S, Whittaker P. Calcium supplementation: effect on iron absorption. *Am J Clin Nutr.* 1991;53:106-111.

68. Minotti P, Buchonski S, Miller D. Effects of calcium supplementation, calcium source and lactose on iron absorption in the rat. *Nutr Res.* 1993;13:1173-1181.
69. Hallberg L, Rossander-Hulthen L, Brune M, Gleerup A. Calcium and iron absorption: mechanism of action and nutritional importance. *Eur J Clin Nutr.* 1992;46:317-327.
70. Gleerup A, Rossander-Hulten L, Hallberg L. Duration of the inhibitory effect of calcium on non-haem iron absorption in man. *Eur J Clin Nutr.* 1993;47:875-879.
71. Reddy M, Cook J. Effect of calcium intake on nonheme-iron absorption from a complete diet. 1997;65:1820-1825.
72. Hallberg L. Does calcium interfere with iron absorption? *Am J Clin Nutr.* 1998;68:3-4.
73. Hamilton D, Bellamy J, Valberg J, Valberg L. Zinc, cadmium, and iron interactions during intestinal absorption in iron-deficient mice. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 1978;56:384-389.
74. Valberg L, Flanagan P, Chamberlain M. Effects of iron, tin, copper on zinc absorption in humans. *Am J Clin Nutr.* 1984;40:536-541.
75. Yip R, Reeves J, Lonnerdal B, Keen C, Dallman P. Does iron supplementation compromise zinc nutrition in healthy infants? *Am J Clin Nutr.* 1985;42:683-687.
76. Yadrick M, Kenny M, Winterfeldt E. Iron, copper, and zinc status: response to supplementation with zinc or zinc and iron in adult females. *Am J Clin Nutr.* 1989;49:145-150.
77. Rossander-Hulten L, Brune M, Sandstrom B, Lonnerdal B, Hallberg L. Competitive inhibition of iron absorption by manganese and zinc in humans. *Am J Clin Nutr.* 1991;54:152-156.
78. Walsh C, Sandstead H, Prasad A Newberne P, Fraker P. Zinc: health effects and research priorities for the 1990s. *Environ. Health Perspect.* 1994;102:5-46.
79. Davisson L, Almgren A, Sandstrom B, Hurrell R. Zinc absorption in adult humans: the effect of iron fortification. *Br J Nutr.* 1995;74:417-425.
80. Hallberg L, Rossander-Hulthen L, Brune M, Gleerup A. Inhibition of haem-iron absorption in man by calcium. *Br J Nutr.* 1993;69:533-540.
81. O'Connell M, Peters T. Ferritin and haemosiderin in free radicals generations, lipid peroxidations and protein damage. *Chem Phys Lipids.* 1987;45:241-249.
82. Brock J. Iron-binding proteins. *Acta Paediatr Scand Suppl.* 1989;361:31-43.
83. Ponka P, Beaumont C, Richardson D. Function and regulation of transferrin and ferritin. *Semin. Hematol.* 1998;35:35-54.
84. Boldt D. New perspectives on iron: an introduction. *Am J Med Sci.* 1999;318:207-212.
85. Morgan E. The role of plasma transferrin in iron absorption in the rat. *Q. J. Exp. Physiol Cogn Med Sci.* 1980;65:239-252.
86. Baker E, Lindley P. New perspectives on the structure and function of transferrins. *J Inorg Biochem.* 1992;47:147-160.
87. Bomford A, Munro H. Transferrin and its receptor: their roles in cell function. *Hepatology.* 1985^a ;5:870-875.
88. Bomford A, Young S, Williams R. Release of iron from the two iron-binding sites of transferrin by cultured human cells: modulation by methylamine. *Biochemistry.* 1985^b ;24:3472-3478.
89. De Jong G, van Dijk J, van Eijk H. The biology of transferrin. *Clin Chim Acta.* 1990;190:1-46.
90. Van Eijk, de Jong G. The physiology of iron, transferrin, and ferritin. *Biol Trace Elem Res.* 1992;35:13-24.
91. McKnight G, Lee D, Hemmaplarh D, Finch C, Palmiter R. Transferrin gene expression. Effects of nutritional iron deficiency. *J Biol Chem.* 1980;255:144-147.
92. Idzerda R, Huebers H, Finch C, McKnight G. Rat transferrin gene expression: tissue-specific regulation by iron deficiency. *Proc Natl Acad Sci. USA.* 1986;83:3723-3727.
93. Zakin M. Regulation of transferrin gene expression. *FASEB.* 1992;6:3253-3258.
94. Brissot P, Wright T, Ma W, Weisiger R. Efficient clearance of non-transferrin-bound iron by rat liver. Implication for hepatic iron loading in iron overload states. *J Clin Invest.* 1985 ;76:1463-1470.
95. Ponka P. Cell biology of heme. *Am J Med Sci.* 1999;318:241-256.
96. Davies K, Maguire J, Brooks G, Dallman P, Packer L. Muscle mitochondrial bioenergetics, oxygen supply, and work capacity during dietary iron deficiency and repletion. *Am J Physiol.* 1982;242:418-427.
97. Johnson J, Willis W, Dallman P, Brooks G. Muscle mitochondrial ultrastructure in exercise-trained iron-deficient rats. *J Appl Physiol.* 1990;68:113-118.
98. White K, Marletta M. Nitric oxide synthase is a cytochrome P-450 type heme protein. *Biochemistry.* 1992;31:6627-6631.
99. Beri R, Chandra R. Chemistry and biology of heme. Effect of metal salts, organometals, and metalloporphyrins on heme synthesis and catabolism, with special reference to clinical implications and interactions with cytochrome P-450. *Drug Metab Rev.* 1993 ;25:49-152.
100. Coon M, Vaz A, McGinnity D, Peng H. Multiple activated oxygen species in P450 catalysis: contributions to specificity in drug metabolism. *Drug Metab Dispos.* 1998;26:1190-1193.
101. Siddhanta U, Wu C, Abu-Soud H, Zhang J, Ghosh D, Stuehr D. Heme iron reduction and catalysis by a nitric oxide synthase heterodimer containing one reductase and two oxygenase domains. *J Biol Chem.* 1996;271:7309-7312.
102. Cooper C. Nitric oxide and iron proteins. *Biochim Biophys Acta.* 1999;1411:290-309.
103. Lall S, Singh B, Gulati K, Seth S. Role of nutrition in toxic injury. *Indian. J Exp Biol.* 1999;37:109-116.
104. Deiss A. Iron metabolism in reticuloendothelial cells. *Semin Hematol.* 1983;20:81-90.
105. Zahringer J, Balliga B, Munro H. Novel mechanism for translational control in ferritin synthesis by iron. *Proc Natl Acad Sci. USA.* 1976;73:857-861.
106. Aziz N, Munro H. Both subunits of rat liver ferritin are regulated at a translational level by iron induction. *Nucleic Acids Res.* 1986;14:915-927.
107. Worwood M. Ferritin. *Blood Rev.* 1990;4:259-269.
108. Andrews S, Arosio P, Botteke W, Briat J, von Dari M, Harrison P, Lahlere J, Levi S, Lobreaux S, Yewdall S. Structure, function, and evolution of ferritins. *J Inorg Biochem.* 1992;47:161-174.
109. Harrison P, Arosio P. The ferritins: molecular properties, iron storage function and cellular regulation. *Biochem Biophys Acta.* 1996;1275:161-203.

110. Thomson A, Roger J, Leedman P. Iron-regulatory proteins, iron-responsive elements and ferritin mRNA translation. *Int J Biochem Cell Biol.* 1999;31:1139-1152.
111. Treffry A, Harrison P, Cleton M, de Bruijn W, Mann S. A note on the composition and properties of ferritin iron cores. *J Inorg Biochem.* 1987;31:1-6.
112. Andrews S, Brady M, Treffry A, Williams J, Mann S, Cleton M, de Bruijn W, Harrison P. Studies on haemosiderin and ferritin from iron-loaded rat liver. *Biol Met.* 1988;1:33-42.
113. De Silva D, Guo J, Aust S. Relationship between iron and phosphate in mammalian ferritins. *Arch Biochem Biophys.* 1993;303:451-455.
114. Chasteen N, Harrison P. Mineralization in ferritin: an efficient means of iron storage. *J Struct Biol.* 1999;126:182-194.
115. Treffry A, Harrison P. Non-random distribution of iron entering rat liver ferritin in vivo. *Biochem J.* 1984;220:857-859.
116. De Silva D, Aust S. Stoichiometry of Fe(II) oxidation during ceruloplasmin-catalyzed loading of ferritin. *Arch Biochem Biophys.* 1992;298:259-264.
117. Levi S, Yewdall S, Harrison P, Santambrogio P, Cozzi A, Rovida E, Albertini A, Arosio P. Evidence of H- and L-chains have co-operative roles in the iron uptake mechanism of human ferritin. *Biochem.* 1992;288:591-596.
118. Bauminger E, Harrison P, Hechel D, Hodson N, Nowik I, Treffry A, Yewdall S. Iron (II) oxidation and early intermediates on iron-core formation in recombinant human H-chain ferritin. *Biochem J.* 1993;296:709-719.
119. Harrison P, Treffry A, Lilley T. Ferritin as an iron-storage protein: mechanisms of iron uptake. *J Inorg Biochem.* 1986;27:287-293.
120. Santambrogio P, Levi S, Crozzi A, Corsi B, Arosio P. Evidence that the specificity of iron incorporation into homopolymers of human ferritin L- and H-chains is conferred by the nucleation and ferroxidase centres. *Biochem J.* 1996;314:139-144.
121. Weir M, Gibson J, Peters T.. Biochemical studies on the isolation and characterization of human spleen haemosiderin. *Biochem J.* 1984;223:31-38.
122. Weir M, Sharp G, Peters T. Electron microscopic studies of human haemosiderin and ferritin. *J Clin Pathol.* 1985;38:915-918.
123. Finch C, Deubelbliss K, Cook J, Eschbach J, Harker L, Funk D, Marsaglia G, Hillman RS, Slichter S, Adamson J, Canzoni A, Giblett ER. Ferrokinetics in man. *Medicine.* 1970;49:17-53.
124. Rosenmund A, Gerber S, Huebers H, Finch C. Regulation of iron absorption and storage iron turnover. *Blood.* 1980;56:30-37.
125. Finch C, Huebers H. Iron metabolism. *Clin Physiol Biochem.* 1986;4:5-10.
126. Huebers H, Finch C. Transferrin: Physiologic behavior and clinical implications. *Blood.* 1984;64:763-767.
127. Cazzola M, Huebers H, Sayers M, MacPhail A, Eng M and Finch C. Transferrin saturation, plasma iron turnover, and transferrin uptake in normal humans. *Blood.* 1985;66:935-939.
128. Margen S, King J. Effect of oral contraceptive agents on the metabolism of some trace minerals. *Am J Clin Nutr.* 1975;28:392-402.
129. Guillebaud J, Barnett M, Gordon Y. Plasma ferritin levels as an index of iron deficiency in women using intrauterine devices. *Br J Obstet Gynaecol.* 1979;86:51-55.
130. Frassinelli-Gunderson E, Margen S, Brown J. Iron stores in users of oral contraceptive agents. *Am J Clin Nutr.* 1985;41:703-712.
131. Kivijarvi A, Timonen H, Rajamaki A, Gronroos M. Iron deficiency in women using modern cooper intrauterine devices. *Obstet Gynecol.* 1986;67:95-98.
132. Sayers M, English G, Finch C. Capacity of the store-regulator in maintaining iron balance. *Am J Hematol.* 1994;47:194-197.
133. McClelland A, Kuhn L, Ruddle F. The human transferrin receptor gene: genomic organization, and the complete primary structure of the receptor deduced from a cDNA sequence. *Cell.* 1987;39:267-274.
134. Jing S, Trowbridge I. Identification of the intermolecular disulfide bonds of the human transferrin receptor and its lipid-attachment site. *EMBO J.* 1987;6:327-331.
135. Iacopetta B, Morgan E, Yeoh G. Transferrin receptors and iron uptake during erythroid cell development. *Biochim Biophys Acta.* 1982;687:204-210.
136. Iacopetta B, Morgan E. The kinetics of transferrin endocytosis and iron uptake from transferrin in rabbit reticulocytes. *J Biol Chem.* 1983;258:9108-9115.
137. Young S, Bomford A, Williams R. The effect of the iron saturation of transferrin on its binding and uptake by rabbit reticulocytes. *Biochem J.* 1984;219:505-510.
138. Callus B, Iacopetta B, Kuhn L, Morgan E. Effects of overexpression of the transferrin receptor on the rates of transferrin recycling and uptake of non-transferrin-bound iron. *Eur J Biochem.* 1996;238:463-469.
139. Iacopetta B, Morgan E. Transferrin endocytosis and iron uptake during erythroid cell development. *Biomed Biochim Acta.* 1983;42:182-186.
140. Paterson S, Armstrong N, Iacopetta B, McArdle H, Morgan E. Intravesicular pH and iron uptake by immature erythroid cells. *J Cell Physiol.* 1984;120:225-232.
141. Rothenberger S, Iacopetta B, Kuhn L. Endocytosis of the transferrin receptor requires the cytoplasmic domain but not its phosphorylation site. *Cell.* 1987;49:423-431.
142. Iacopetta B, Rothenberger S, Kuhn L. A role for the cytoplasmic domain in transferrin receptor sorting and coated pit formation during endocytosis. *Cell.* 1988;54:485-489.
143. Nuñez M, Gaete V, Watkins J, Glass J. Mobilization of iron from endocytic vesicles. The effects of acidification and reduction. *J Biol Chem.* 1990;265:6688-6692.
144. Bali P, Zak O, Aisen P. A new role for the transferrin receptor in the release of iron from transferrin. *Biochemistry.* 1991;30:324-328.
145. Gaete V, Nuñez M, Glass J. Cl⁻, Na⁺, and H⁺ fluxes during the acidification of rabbit reticulocyte endocytic vesicles. *J Bioenerg Biomembr.* 1991;23:147-160.
146. Watkins J, Nuñez M, Gaete V, Alvarez O, Glass J. Kinetics of iron passage through sub cellular compartments of rabbit reticulocytes. *J Membr Biol.* 1991;119:141-149.
147. Bali P, Aisen P. Receptor-induced switch in site-site cooperativity during iron release by transferrin. *Biochemistry.* 1992 ;31:3963-3967.

148. Escobar A, Gaete V, Nuñez M. Effect of ascorbate in the reduction of transferrin-associated iron in endocytic vesicles. *J Bioenerg. Biomembr.* 1992;24:227-233.
149. Egan T, Zak O, Aisen P. The anion requirement for iron release from transferrin is preserved in the receptor-transferrin complex. *Biochemistry.* 1993;32:8162-8167.
150. Scheiber B, Goldenberg H. NAD(P)H: ferric iron reductase in endosomal membranes from rat liver. *Arch Biochem Biophys.* 1993;305:225-230.
151. Marques H, Walton T, Egan T. Release of iron from C-terminal monoferric transferrin to phosphate and pyrophosphate at pH 5.5 proceeds through two pathways. *J Inorg Biochem.* 1995;57:11-21.
152. Schonhorn J, Akompong T, Wessling-Resnick M. Mechanism of transferrin receptor down-regulation in K562 cells in response to protein kinase C activation. *J Biochem.* 1995;270:3698-3705.
153. Young S, Roberts S, Bomford A. Intracellular processing of transferrin and iron by isolated rat hepatocytes. *Biochem.* 1985;232:819-823.
154. Mattia E, Josic D, Ashwell G, Klausner R, van Renswoude J. Regulation of intracellular iron distribution in K562 human erythroleukemia. *Cells. J Biol Chem.* 1986;261:4587-4593.
155. Richardson D, Baker E. Intermediate steps in cellular iron uptake from transferrin. Detection of a cytoplasmic pool of iron, free of transferrin. *J Biol Chem.* 1992;267:21384-21389.
156. Li C, Watkins J, Hamazaki S, Altazan J, Glass J. Iron binding, a new function for the reticulocyte endosome H(+)-ATPase. *Biochemistry.* 1995;34:5130-5136.
157. Mayer B, John M, Heinzel B, Werner E, Wachter H, Schultz G, Bohme E. Brain nitric oxide synthase is a bipterin- and flavin-containing multi-functional oxido-reductase. *FEBS Lett.* 1991;288:187-191.
158. Stuehr D, Ikeda-Saito M. Spectral characterization of brain and macrophage nitric oxide synthases. Cytochrome P-450-like hemoproteins that contain a flavin semiquinone radical. *J Biol Chem.* 1992;267:20547-20550.
159. Gibson R. Principles of nutritional assessment. Oxford University Press. New York. USA. 1990.
160. Henry J. Hematology and coagulation, in Todd-Sanford-Davidsohn: Clinical diagnosis and management by laboratory methods (17 Edition). Saunders & Co. Philadelphia. 1988.
161. Ferguson B, Skikne B, Simpsom K, Baynes R, Cook J. Serum transferrin receptor distinguishes the anemia of chronic disease from iron deficiency anemia. *J Lab Clin Med.* 1992;119:385-390.
162. Kuvibidila S, Yu L, Ode D, Warriar R, Mbele V. Assessment of iron status of Zairean women of childbearing age by serum transferrin receptor. *Am J Clin Nutr.* 1994;60:603-609.
163. Rusia U, Flowers C, Madan N, Agarwal N, Sood S, Sikka M. Serum transferrin receptors in detection of iron deficiency in pregnancy. *Ann Hematol.* 1999;78:358-363.
164. Herbert V. The 1986 Herman Award Lecture. Nutrition science as a continually unfolding story: the folate and vitamin B₁₂ paradigm. *Am J Clin Nutr.* 1987;46:387-402.

Recibido: 06-05-2002

Aceptado: 10-02-2003

Evaluación dietética de adolescentes embarazadas durante el primer, segundo y tercer trimestre

Evelyn Peña, Armando Sánchez, Zulay Portillo y Liseti Solano

Centro de Investigaciones en Nutrición. Universidad de Carabobo. Valencia -Venezuela

RESUMEN. Para identificar el riesgo de un aporte inadecuado de nutrientes, se evaluó el consumo (energía y nutrientes) por trimestre en 75 adolescentes (14-18 años) embarazadas (12 semanas al ingreso), de bajos recursos y aparentemente sanas, de una Maternidad de Valencia, Venezuela. Se investigó el aporte de energía y de nutrientes por trimestre (dos recordatorios-24 horas) y el patrón de consumo de alimentos (frecuencia de consumo). El estado nutricional se evaluó según el índice de masa corporal (peso pregestacional/talla²), utilizando los puntos de corte sugeridos del Instituto de Medicina Americano. Se realizaron comparaciones de medias para muestras repetidas, frecuencias y ANOVA. El 34,6% de las adolescentes iniciaron el embarazo con peso bajo y solo 5,3% con exceso. Independientemente de que el valor promedio de energía estuvo por debajo de la recomendación al inicio del embarazo, se observaron aumentos significativos entre primer y segundo trimestre ($p<0.001$) en energía, carbohidratos, niacina, zinc y ($p<0.05$) para grasas, proteínas, riboflavina, tiamina, vitamina C, calcio y hierro. Del segundo para el tercer trimestre sólo la vitamina A aumentó significativamente ($p<0.05$). Entre el primer y tercer trimestre, hubo diferencias significativas ($p<0.001$) para energía, proteínas, carbohidratos, niacina, riboflavina, zinc y ($p<0.05$) para tiamina, vitamina A y calcio. Una elevada proporción de embarazadas no alcanzaron la recomendación para energía, folato, calcio y zinc. El patrón de consumo de alimentos no mostró cambios importantes. La ganancia de peso total fue de $9,200\pm 4,8$ kg ($0,412\pm 0,4$ g/semana). El peso del recién nacido fue de $3,221\pm 418$ g. Se concluye que la embarazada adolescente está en un alto riesgo nutricional y por esta razón requiere de una atención individual e integral desde antes de la concepción y durante toda la gestación.

Palabras clave: Adolescente, embarazo, estado nutricional, dieta.

SUMMARY. Dietary evaluation of pregnant adolescents during first, second and third trimester. In order to identify risk of inadequate intake of calories and nutrients during pregnancy, 75 pregnant adolescents (14 to 18 years old) apparently healthy, from low socioeconomic level, in their first prenatal control (12 weeks) were studied by two 24 hour recalls and a food frequency questionnaire at each trimester. Nutritional status was assessed by body mass index (pregestation weight/height²) and classified according to American Medicine Institute reference. Paired t-test, frequency distribution and ANOVA were used for statistical analysis. Low weight was found in 34,6% of adolescent at the first visit and 5,3% were overweight. Even though, caloric intake was below recommendation, significant increases were observed between first and second trimester for energy, carbohydrates, niacin and zinc ($p<0.001$) and for fat, proteins, riboflavin, thiamin, vitamin C, calcium and iron ($p<0.05$). From second to third trimester, differences ($p<0.05$) were significant only for vitamin A. Between first and third trimester, differences were significant ($p<0.05$) for energy, proteins, carbohydrates, niacin, riboflavin, zinc and for thiamin, vitamin A and calcium ($p<0.05$). A high proportion of pregnant adolescent did not reach recommendations for energy, folate, calcium and zinc. Food intake pattern did not change significantly among trimesters. Mean total weight gain was 9,2 kg and $0,412\pm 0,4$ g/week. Newborn's mean weight was $3,221\pm 418$ grams. It is concluded that adolescents are at high nutritional risk and deficiency of dietary intake should be followed. Attention should be addressed from the preconceptional period to postpartum in order to improve maternal and fetal conditions.

Key words: Adolescence, pregnancy, nutritional status, diet.

INTRODUCCION

El crecimiento y desarrollo durante la adolescencia está influenciado por factores hormonales y nutricionales. Una nutrición deficiente retrasa la aparición de la pubertad y todos los cambios hormonales que de ella dependen (1). Durante la adolescencia, los requerimientos nutricionales parecen depender menos de la edad cronológica y más del crecimiento (2).

El embarazo es un proceso de adaptación fisiológica, el cual ocurre primariamente en un esfuerzo para suplir el

desarrollo del feto con aquellos nutrientes que son esenciales en su crecimiento y desarrollo y que provienen de los tejidos maternos (3).

Las adolescentes que se embarazan antes de alcanzar la madurez fisiológica, es decir, en los cuatro años siguientes a la menarquia, están en situación de alto riesgo nutricional, ya que deben satisfacer las necesidades de energía y nutrientes de su crecimiento y además, cubrir las demandas propias del embarazo (4). Aunque el riesgo nutricional está aumentado tanto para la madre como para el feto, no está claro si ello es debido a la edad, o a factores sociales externos, tales como

deficiente nutrición, peso bajo al inicio del embarazo y pobre ganancia de peso (5).

En las adolescentes embarazadas puede haber competencia con el feto por los nutrientes lo que pudiera afectar su estado nutricional y es más frecuente encontrar productos de embarazo con bajo peso y alta morbilidad y mortalidad que en las adultas (6).

La evaluación de los hábitos alimentarios de las embarazadas muestra que las menores de 18 años de edad tienen patrones de alimentación erráticos así como un menor consumo de alimentos que las mujeres adultas (7). Comúnmente se ha reportado que las adolescentes llevan dietas que no proveen la cantidad suficiente de nutrientes que necesitan para asegurar su salud, de ahí que los aportes de calorías, calcio, hierro, zinc, ácido fólico y vitaminas A y C se encuentran en cantidades inadecuadas en un grupo importante de adolescentes (8).

Sobre la base de lo antes mencionado y dada la escasa información que a nivel nacional existe, se consideró evaluar el aporte dietario de energía y de macro y micronutrientes y las características del patrón de consumo de un grupo de adolescentes durante el embarazo.

METODOLOGIA

Sujetos

Este estudio prospectivo longitudinal fue conducido en la Maternidad del Sur "Dr. Armando Arcay", institución de servicio público, dependiente de la Fundación Instituto Carabobeño para la Salud (INSALUD) en Valencia, Venezuela; cuya característica principal es el alojamiento conjunto. Inicialmente se estudiaron 213 adolescentes que llenaron los siguientes criterios de inclusión: ser menor de 19 años, estar en el primer trimestre de embarazo y no presentar cuadro clínico asociado. A los fines u objetivos del estudio solo 75 adolescentes asistieron a los tres controles (Febrero de 1998 a Mayo 2000).

Evaluación Nutricional

Sociodemográfica

Se evaluó en cada paciente, mediante entrevista, el estrato social con el método Graffar modificado por Méndez Castellano (9) y algunas características personales: estado civil, nivel educativo alcanzado, ocupación actual y paridad.

Clínico- antropométrica

La evaluación clínica incluyó: edad actual (EA) según fecha de nacimiento; la edad gestacional (EG) que fue determinada por el recordatorio de la fecha de la última regla, en el 80% de los casos y en aquellos con dudas, se obtuvo por ecosonograma. Las variables antropométricas evaluadas fueron: peso pregestacional (PP), peso actual (PA) y talla actual (TA).

Las mediciones fueron realizadas a las pacientes en visitas programadas previas al parto (semanas 12, 22 y 33 de gestación), según el protocolo del trabajo; bajo la coordinación de dos investigadores debidamente entrenados y estandarizados en antropometría (para minimizar el error de medición entre investigadores), utilizando las técnicas recomendadas (10).

Cada una de las jóvenes fue pesada y medida sin zapatos y con el mínimo de ropa. Para el peso se utilizó una balanza con escala graduada, marca Detecto, registrándose éste al 0,1 Kg más cercano. La talla se midió con una cinta métrica no extensible (plástica) fijada a la pared, señalando el tope con una escuadra en ángulo recto, con la persona con los hombros en posición relajada y los brazos colgantes. Los valores de peso y talla se expresaron en kilogramos y centímetros respectivamente. El peso pregestacional fue obtenido por recordatorio en el 90% de las adolescentes al entrar al estudio y corresponde al peso que la adolescente refería tener antes del embarazo (11). Para el 10% restante se consideró el peso actual de la primera visita en el primer trimestre. El índice de masa corporal pregestacional (IMCP) fue calculado mediante la fórmula (peso pregestacional kg/ talla²) y las categorías fueron definidas de acuerdo a lo sugerido por el Instituto de Medicina de EEUU (10), correspondiendo: Bajo < 19,8 (kg/m²), Normal de 19,8 a 26,9 (kg/m²) y Exceso >27,0 (kg/m²). Este índice de masa corporal se tomó como un indicador del estado nutricional de la madre aproximado antes de la gestación.

La ganancia de peso entre la primera y última visita prenatal se calculó, tomando en cuenta la última medición del peso, antes del parto para cada embarazada (en promedio correspondió a la semana 33) menos el peso pregestacional en kilogramos. El aumento de peso por semana se calculó al dividir, el aumento de peso total de cada embarazada entre la sumatoria de las semanas de gestación contadas para cada una de las embarazadas, hasta cuando se registró la última medición del peso y se expresó en gramos por semana (12). El peso promedio de los recién nacidos se expresa en kilogramos, y se presenta según las categorías de índice de masa corporal materno.

Dietética

El aporte dietético fue evaluado por nutricionistas previamente entrenadas en los diferentes pasos metodológicos para aplicar el recordatorio de 24 horas de modo estandarizado (aplicación del formulario respectivo, mediciones de alimentos y bebidas, así como la estimación de las porciones de alimentos más comúnmente usados por grupos de la misma población a estudiar). Se utilizó el método de recordatorio de 24 horas (13), realizado durante dos días no consecutivos (día hábil y de fin de semana sábado o domingo), para cada trimestre (semanas 12, 22 y 33). El

entrevistador hizo énfasis en las cantidades y tipos de alimentos, así como en preparaciones especiales (registrando medidas e ingredientes utilizados). El tamaño de las raciones de las preparaciones comúnmente usadas por cada paciente, fueron estimadas con la ayuda de alimentos modelados y equipos de medidas provisto por el nutricionista. Para el cálculo del aporte de energía y nutrientes se utilizó un programa computarizado con los datos de la Tabla de Composición de Alimentos de Venezuela (14) y donde además se han incorporado los valores correspondientes a nutrientes como ácido fólico y zinc de otras tablas de composición (15,16).

Los datos para los diferentes nutrientes obtenidos en cada recordatorio fueron promediados por trimestre. Posteriormente los valores individuales de energía y nutrientes fueron revisados basándose en recomendaciones nacionales (17) e internacionales (18), aún cuando las comparaciones se realizaron contra las nacionales, excepto para el folato (18). Se usó para energía, la ecuación para el grupo de 10 a 18 años, que determina el gasto energético en reposo (GER); definiendo para este grupo la actividad "ligera" y usando como factor 1,5, con los ajustes por el embarazo (aumento de 300 kcal en el segundo y tercer trimestre) y para las vitaminas y minerales los correspondientes según la edad y el trimestre de embarazo. El punto de corte para estimar riesgo de deficiencia de consumo de energía se fijó por debajo del requerimiento promedio calculado para este grupo, según los diferentes trimestres de embarazo y para las vitaminas y minerales se uso el criterio de 2/3 de la recomendación (19) aplicado sobre las recomendaciones respectivas. Los valores correspondientes a los diferentes nutrientes en este estudio están basados exclusivamente sobre el aporte de alimentos tomado de los recordatorios y no reflejan estimaciones de otras fuentes (suplementos).

El patrón de consumo de alimentos se evaluó aplicando el método de frecuencia de consumo de alimentos (20), el cual estuvo constituido por una lista de 100 alimentos, tamaño de la ración (pequeña, mediana y grande) y período de consumo (diario, semanal, mensual y nunca).

La lista de alimentos se elaboró tomando en cuenta los objetivos del proyecto y según el patrón de consumo de la población estudio, previamente evaluado. Para establecer el tamaño de la ración (pequeña, mediana y grande), se conoció inicialmente las porciones más usadas por las adolescentes y luego se estimaron valores promedios según raciones. A los fines de establecer el período de consumo se usaron cuatro opciones (diario, semanal mensual y nunca), según lo sugerido por Block (21). Se definió como consumo diario, cuando la ingesta de un determinado alimento se hizo más de tres veces por semana; semanal cuando se consumió entre 1 y 3 veces por semana y mensual cuando la frecuencia de consumo del alimento era de 1 a 3 veces por mes. La definición de nunca se usó para incluir alimentos cuyo

consumo fue interrogado pero no se reportó su ingesta.

Pruebas estadísticas

Las estadísticas descriptivas fueron generadas usando SPSSX (versión 8.0, Chicago 1988). Los valores se expresan como media y desviación estándar según grupos. Se utilizó la prueba de t de Student para muestras repetidas e identificar diferencias entre medias, análisis de frecuencia para establecer proporción de riesgo de deficiencia y ANOVA (diferencias entre grupos), con un nivel de significancia de $p < 0,05$. La normalidad de las variables energía y nutrientes fue revisada con la prueba de Kolmogorov- Smirnov (22).

RESULTADOS Y DISCUSION

En la Tabla 1 se muestran las características socio-demográficas de las 75 adolescentes que conformaron el grupo estudiado. La edad promedio fue de $16 \pm 1,2$ años, con una edad gestacional promedio de $12 \pm 2,3$ semanas en el primer trimestre; de $22 \pm 2,3$ semanas en el segundo trimestre y de $33 \pm 2,2$ semanas en el tercer trimestre. Las gestantes se encontraron dentro de la clasificación de pobreza (estrato social IV y V), siendo el 84% madres solteras, con bajo nivel educativo (84%) y desempeñándose actualmente como amas de casa (81,3%). Cabe destacar que el 80% fueron primíparas y que solo el 38,6% refirió estar recibiendo suplementación (con hierro, ácido fólico y vitaminas). El promedio de peso de las adolescentes antes del embarazo y basado en el recordatorio fue de $51,9 \pm 7,5$ (rango de 38 a 75 kgs) y la estatura fue de $156,9 \pm 5,5$ cms (rango de 145 a 175 cms). Según el IMCP, el 34,6% inició su embarazo con bajo peso y solo el 5,3% tenía exceso de peso. Los datos sociales obtenidos de las adolescentes revelan la homogeneidad del grupo.

El aporte de energía y nutrientes durante los tres trimestres se muestran en la Tabla 2. Hubo un aporte promedio de energía de aproximadamente 1802 kcal/día, siendo el 73% de esta energía proveniente de alimentos de origen vegetal, mientras que el promedio de las proteínas fue de 60,7 g/d, de los cuales 33,3 g (58%) proveniente de fuente animal. Aún cuando la proporción de calorías provenientes de proteínas, grasas y carbohidratos en los diferentes trimestres de embarazo fue adecuada, en general el aporte de energía estuvo considerablemente por debajo de la recomendación (84,0%) en el primer trimestre y (92,0% y 94,7%) especialmente en el segundo y tercer trimestre (Gráfico I). Para comparación se presentan los ajustes recomendados por el embarazo (300 kcal/d) en el segundo y tercer trimestre (17,18). En el estudio se observan aumentos significativos del primer al segundo trimestre ($p < 0,001$) para energía y carbohidratos y ($p < 0,05$) para las proteínas y grasas. Del primer al tercer trimestre ($p < 0,001$) el incremento se observa para energía, proteínas y carbohidratos.

TABLA 1
Características de las adolescentes

Parámetro	(x ± DE)
Edad actual (años)	16 ± 1,2
Edad Menarquía (años)	12 ± 1,2
Edad Ginecológica (años)	4 ± 1,5
Peso pregestacional (kg)	51,9 ± 7,5
Estatura (cms)	156,9 ± 5,5
IMC (kg/m ²)	21,0 ± 2,7
Trimestre Gestación:	
Primer Trimestre	12 ± 2,3
Segundo Trimestre	22 ± 2,3
Tercer trimestre	33 ± 2,2
Estado Civil:	
Soltera	63 (84%)
Casada	12 (16%)
Educación	
Básica	63 (84%)
Diversificada	12 (16%)
Paridad:	
Primíparas	60 (80%)
Múltiparas	15 (20%)
Suplementación	
Si	29 (38%)
No	46 (61%)
IMC (kg/m ²):	
Bajo Peso < 19,8	26 (34,6%)
Normal 19,8 a 26,0	45 (60,0%)
Exceso > 26,0	4 (5,3%)

Debido a la ausencia de datos nacionales sobre el consumo de energía y nutrientes en este grupo de población, se consideró apropiado comparar con resultados de otros estudios en poblaciones de características similares, observándose coincidencias en el aporte de energía provenientes de estudios en México, entre mujeres adolescentes y adultas en edad reproductiva (23) y en embarazadas adolescentes y adultas de EEUU (24), pero por debajo de las recomendaciones y resultados de otros estudios (25-27), lo que nos indica que las adolescentes y en especial durante el embarazo presentan una alta variabilidad en el aporte de energía y nutrientes según los diferentes trimestres de gestación.

En relación con los nutrientes (Tabla 3) se observó que del primer al segundo trimestre hubo un aumento significativo ($p < 0,001$) para niacina, y cinc y ($p < 0,05$) para riboflavina, tiamina, vitamina C, calcio y hierro. Solamente la vitamina A se incrementó significativamente ($p < 0,05$) del segundo para el tercer trimestre. Del primer al tercer trimestre el aumento en el aporte fue significativo ($p < 0,001$) para niacina, riboflavina y zinc y ($p < 0,05$) para tiamina, vitaminas A y C y calcio.

TABLA 2
Aporte de energía y macronutrientes según trimestre de embarazo

	I Trimestre Media±DE	II Trimestre Media±DE	III Trimestre Media±DE	Requerimiento promedio*
Energía total (kcal/d)	1665±412	1862±424	1882±391 ^b	2081/2447/2525
Animal (kcal/d)	435±183	473±209	475±153	
Vegetal (kcal/d)	1222±327	1356±406	1372±301 ^b	60
Proteínas (g/d)	57,1±14,6	62,8±16,5 ^a	66,2±16,6 ^b	
Animal (g/d)	31,2±13,1	32,5±13,6	36,8±13,8 ^c	60
Vegetal (g/d)	25,4±9,3	29,5±10,3 ^a	29,2±8,9 ^b	
% (kcal)	13,3±2,2	13,0±2,1	13,8±2,1	60
Grasas (g/d)	50,3±17,3	56,2±19,0 ^a	53,6±15,3	
% (kcal)	26,0±4,8	25,9±5,3	25,1±4,8	60
Carbohidratos (g/d)	261,3±67,1	292,1±68,2 ^a	292,5±61,4 ^b	
% (kcal)	60,5±5,4	60,8±6,1	61,0±4,9	

(n= 75). "t" muestras repetidas

* Requerimiento promedio de energía calculado para este grupo: I trimestre/II/ III trimestre

^a = I y II trimestre: ($p < 0,001$) energía total, energía de fuente vegetal y carbohidratos. ($p < 0,05$) proteínas totales, proteínas de fuente vegetal y grasas.

^b = I y III trimestre: ($p < 0,001$) energía total, energía de fuente vegetal, proteínas totales, y carbohidratos. ($p < 0,05$) proteínas de fuente vegetal.

^c = II y III trimestre: ($p < 0,05$) proteínas animal

TABLA 3
Aporte de micronutrientes (Media±DE) según trimestre de embarazo

	I Trimestre	II Trimestre	III Trimestre	Ingesta Recomendada*
Niacina (mg/d)	14,8 ± 4,7	17,5 ± 5,5 ^a	17,8 ± 5,2 ^b	13 / 18
Riboflavina (mg/d)	1,2 ± 0,5	1,4 ± 0,5 ^a	1,5 ± 0,5 ^b	1,0 / 1,4
Tiamina (mg/d)	0,9 ± 0,3	1,1 ± 0,4 ^a	1,1 ± 0,3	1,1 / 1,5
Folato (µg/d)	86,4 ± 66,0	79,7 ± 69,9	89,7 ± 79,9	400
Vitamina B12 (µg/d)	1,6 ± 1,0	2,9 ± 7,4	3,9 ± 10,4	2,3 / 2,6
Vitamina A (ER/d)	1140,6 ± 1132,3	1205,3 ± 931,1	1686,9 ± 1512,1 ^{b,c}	800
Vitamina C (mg/d)	124,7 ± 84,9 ^c	98,5 ± 72,6	110,6 ± 81,0 ^b	60 / 70
Calcio (mg/d)	517,3 ± 243,6	617,3 ± 289,7 ^a	614,3 ± 291,5 ^b	1300
Hierro (mg/d)	16,5 ± 4,9	18,2 ± 4,9 ^a	18,1 ± 5,9	15 / 30
Zinc (mg/d)	8,8 ± 2,9	10,9 ± 3,9 ^a	10,6 ± 3,2 ^b	12 / 15

(n=75). "t" muestras pareadas.

* Ingesta recomendada (17,18): I trimestre/II y III trimestre

^a = I y II trimestre: (p<0,001) niacina y cinc. (p<0,05) riboflavina, tiamina, vitamina C, calcio e hierro.

^b = I y III trimestre: (p<0,001) niacina, riboflavina y cinc. (p 0,05) tiamina, vitaminas A y C y calcio.

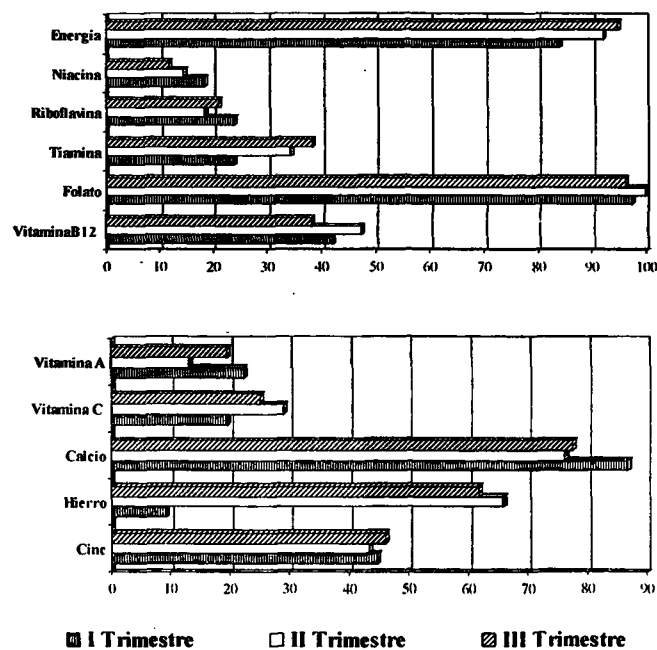
^c = II y III trimestre: (p<0,05): vitamina A.

En general en este grupo se observó que los valores promedios de tiamina, calcio, hierro y zinc, estuvieron por debajo de la recomendación nacional especialmente entre segundo y tercer trimestre (17), mientras que el folato se observó por debajo de la recomendación utilizada (400 mg/d)(18), como se muestra en la Tabla 3 y coincidiendo con otros trabajos (4,28), los cuales a pesar de que muestran aportes superiores a las recomendaciones para energía y proteínas, no reflejan el mismo comportamiento especialmente para folato, calcio, hierro y zinc. En nuestro estudio se encontró que entre el 96,1 al 99,9% de las adolescentes tuvieron aportes durante la gestación por debajo de los dos tercios de la recomendación (Gráfico I), lo que pudiera ser explicado por la existencia de un bajo consumo real de alimentos fuentes de folato o por la conocida insuficiencia en las bases de datos de análisis de alimentos. Con relación al aporte de calcio y dada su importancia en los años cruciales, de formación del pico de masa ósea, durante el desarrollo (26), observamos en el grupo estudiado que su aporte se incremento significativamente del primer al tercer trimestre, sin embargo el promedio (517± 243 mg, 617±289 mg y 614± 291 mg) en cada trimestre se mantuvo por debajo de dos tercios de la recomendación en el 76,3% y el 86,8% de las adolescentes. Estos resultados indican consistencia con los obtenidos por otros investigadores (8,26), pero muy por debajo de los observados en adolescentes Israelíes no embarazadas y en adolescentes embarazadas (5,29). Por otro lado, los valores promedio de calcio muestran relación (no significativa) con el deficiente consumo de leche y otros lácteos, manifestado por un 60% de las adolescentes con una frecuencia de consumo 1 a 3 veces por semana. Con relación al hierro se ha mencionado la importancia de satisfacer las elevadas necesidades fisiológicas en esta etapa de la vida (30), sin embargo en este estudio, el hierro dietético estuvo

por debajo de la recomendación; especialmente en el segundo y tercer trimestre del embarazo y en el cual, el 65,8% y 61,8% de las mujeres reportaron consumos menores a los dos tercios de la recomendación, inferior a lo encontrado por Swenses (31), sugiriendo que esta deficiencia es común, lo que soporta la necesidad de suplementación (29,31).

GRAFICO I

Proporción de adolescentes embarazadas que no alcanzan las recomendaciones de energía* y nutrientes**



* Por debajo de la recomendación promedio calculada para este grupo.

** por debajo de los 2/3 de la recomendación.

Los valores promedio para las vitaminas A y C del grupo estudio alcanzaron, o excedieron los valores referenciales en los diferentes trimestres, lo que coincide con otros estudios (5,28). Aún cuando existe poca información del efecto del embarazo sobre la selección de alimentos y el patrón de consumo, ha sido documentado que los hábitos dietéticos de las adolescentes embarazadas son más erráticos y que el aporte de ciertos nutrientes son más bajos que aquellos reportados por las embarazadas adultas (32).

En nuestro estudio (Tabla 4), el resultado de la frecuencia de consumo (semicuantitativa) nos muestra unas adolescentes cuyo patrón de consumo de alimentos no presenta cambios importantes durante el embarazo. De igual manera, estos datos son similares a los promedios obtenidos a través del recordatorio de 24 horas (cuantitativo), especialmente en el segundo semestre de gestación, donde el 90% de las adolescentes refirió continuar con su alimentación habitual.

TABLA 4
Patrón de consumo de alimentos de las adolescentes embarazadas

Alimentos	Total del grupo (n, %)	Según tamaño de ración (%)			Según período (%)		
		Pequeña	Mediana	Grande	Día	Semana	Mes
Arroz	65(100)	-	64	36	25	75	-
Azúcar	65(100)	38	62	-	97	3	-
Pasta	61(95)	-	52	48	5	92	3
Arepa	61(95)	-	37	63	82	18	-
Grasas	59(92)	69	31	-	85	14	1
Vegetales	43 (66)	19	76	17	17	79	4
Tubérculos y plátano	39 (60)	10	80	10	6	89	5
Leche, derivados y huevos	39 (60)	5	86	9	33	61	6
Otros cereales	37 (57)	4	72	24	20	68	12
Leguminosas	32 (49)	7	73	20	2	89	9
Frutas	31 (48)	3	85	12	6	85	9
Carnes	29 (46)	3	90	7	2	88	10

Los cereales arroz, trigo(pastas) y maíz (arepa) fueron los alimentos de mayor consumo (95 y 100%), especialmente la arepa con una frecuencia de consumo diario y similar a lo reportado para Venezuela en el mismo estrato social (33); siguiendo en orden de aceptación grasas y azúcares (92% y 100%), tubérculos, plátanos y vegetales (60% y 66%), leche y derivados y huevos (60%) carnes, frutas y leguminosas (46%-48%). Para la mayoría de los alimentos, la ración mediana fue la de consumo más común, con una frecuencia semanal (1 a 3 veces semana).

Como se observó, existió un déficit en el aporte de energía y nutrientes y a pesar de esto hubo una ganancia de peso muy cercana a las recomendaciones. Este hallazgo pudiera ser explicado por el bajo nivel de actividad física manifestado por parte de las adolescentes, con el consecuente menor gasto energético, que pudiera estar favoreciendo un mejor aprovechamiento tanto de la energía como de los nutrientes de la dieta.

Existe coincidencia con otros estudios en relación con un bajo aporte de alimentos fuentes de folato, calcio, hierro y zinc (5,26,28). Por otro lado, el aporte de vitamina C estuvo mayormente dado por el consumo de frutas como guayaba, lechoza y cambur lo que pudiera estar facilitando la absorción del hierro independientemente de su biodisponibilidad.

La ganancia de peso materno (Tabla 5) hasta la visita previa al nacimiento (33 semanas de gestación) fue de $8,5 \pm 3,4$

kg y el promedio de peso al nacer del recién nacido fue de $3,221 \pm 418$ gramos. Basados en la clasificación de índice de masa corporal pregestacional, sugerido por el Instituto de Medicina de EEUU (10), se encontró que la ganancia de peso materno y el peso al nacer no difirió significativamente entre los grupos (bajo peso, normales y en exceso), sin embargo aquellas adolescentes que iniciaron su embarazo con bajo peso tuvieron una ganancia de peso similar ($8,5 \pm 2,7$ kg vs $8,5 \pm 3,8$ kg) a las normales, e inferior de las que tenían exceso de peso ($9,1 \pm 3,2$ kg).

El peso al nacimiento fue similar entre las adolescentes de los grupos normal y en exceso; y más bajo ($3,096 \pm 268$ gramos) entre las que iniciaron el embarazo con bajo peso.

Si bien la velocidad de ganancia de peso no se reporta comúnmente en la literatura, se considera que las mujeres que inician su embarazo con bajo peso son generalmente las más beneficiadas de una ganancia de peso total gestacional al compararlas con sus contemporáneas de peso normal (34,35). El Instituto de Medicina de EEUU recientemente recomendó que las embarazadas de bajo peso deberían esforzarse en alcanzar una mayor velocidad de ganancia de peso que las normales ($0,500$ g vs $0,400$ g/semana), en el segundo y tercer trimestre de embarazo (34). En este estudio se observó que el 34,6% de las adolescentes que iniciaron su embarazo con bajo peso, mostraron una ganancia promedio ($0,409 \pm 0,1$ g/semana) inferior a la recomendación.

TABLA 5
Características de las adolescentes y el recién nacido según categorías de índice de masa corporal pregestacional

	Bajo peso (n=26)	Normal (n=45)	Exceso (n=4)	p
Edad materna (años)	16,2±1,3	16,5±1,0	16,5±1,2	0,507
Estatura (cms)	157,3±5,6	156,6±5,5	156,9±5,5	0,707
Peso pregestacional (kg)	46,0±3,4	53,5±5,2	71,8±4,9	0,000
IMCP (kg/m ²)	18,5±0,5	21,8±1,6	28,5±1,7	0,000
Ganancia de Peso (kg)	9,60±4,7	9,14±4,8	7,17±5,5	0,644
Ganancia/semana (gramos)	0,468±0,25	0,450±0,26	0,364±0,27	0,757
Peso recién nacido (kg)	3,081±263	3,301±417	3,275±242	0,223

ANOVA

Las categorías según IMC son como sigue: Bajo peso < 19,8 kg/m², normal 19,8 a 26,9 kg/m² y exceso ≥ 27,0 kg/m².

De lo anterior se concluye que las adolescentes embarazadas son un grupo vulnerable y que aun cuando sus dietas no parecen variar mucho durante la gestación a excepción del calcio, son insuficientes para alcanzar las recomendaciones sólo con la dieta para nutrientes como folatos, hierro y zinc. De tal manera que es perentorio el desarrollo de estrategias tendientes por un lado, a elevar el consumo de alimentos fuentes de estos nutrientes deficitarios en las dietas, así como incorporar e incrementar el consumo de otros alimentos (productos lácteos, cereales fortificados, leguminosas etc.) que pudieran mejorar el aporte de energía y otros nutrientes. Adicionalmente se debe incluir educación nutricional con el fin de promover conductas alimentarias adecuadas y favorecer la selección apropiada de los alimentos.

AGRADECIMIENTO

Los autores agradecemos la colaboración prestada en la realización del mismo, a las adolescentes por su constancia y paciencia, a los bebés por su hermosa presencia, al personal de la Maternidad del Sur "Dr. Armando Arcay" y al equipo de profesionales del Centro de Investigaciones en Nutrición.

Financiamiento recibido: Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad de Carabobo.

REFERENCIAS

- Muñoz de Chávez M, Urbina M, Rios A, Guarneros N, Martínez C, Soberanes B, Domínguez L y Chávez A. Impacto del embarazo temprano en el desarrollo biológico y social de adolescentes rurales. Arch Latinoam Nutr 1995; 45(1-S):174-176.
- Scholl TO, Hediger ML, Scholl JI, Khoo CS and Fischer RL. Maternal growth during pregnancy and the competition for nutrients. Am J Clin Nutr 1994; 60:183-188, 1994.
- Repke JT. Calcium and Vitamin D. Clinical Obstetrics and Gynecology 1994; 37(3):550-557.
- Dunn C, Kolasa K, Dunn P and Ogle M. Dietary intake of pregnant adolescents in a rural southern community. J Am Diet Assoc 1994; 94(9):1040-1041.
- Borah J, Krug SK, Tsang RC Guo S, Miodovnik M and Prada J. Pregnant adolescent and adult women have similarly low intakes of selected nutrients. J Am Diet Assoc 2000;100(11):1334-1340.
- ADA Reports. Nutrition management of adolescent pregnancy: Technical Support Paper. J Am Diet Assoc 1989; 89(1):105-108.
- Berenson AB, Wiemann CM, Rowe TF and Rickert VI. Inadequate weight gain among pregnant adolescents: Risk factors and relationship to infant birth weight. Am J Obstetric Gynecology 1997;176:1220-7.
- Stang J, Story MT, Harnack L and Neumark-Sztainer. Relationships between vitamin and mineral supplement use, dietary intake and dietary adequacy among adolescents. J Am Diet Assoc 2000; 100:905-910.
- Méndez Castellano H y de Méndez MC. Sociedad y Estratificación. Método Graffar/ Méndez Castellano. Caracas, Venezuela. 1994.
- Institute of Medicine. Nutrition during pregnancy. Part I. Weight gain. Part II. Nutrient Supplements. National Academy Press. Washington, D.C. pp 1-23, 1990.
- Wong W, Tang N, Lau T and Wong T. A new recommendation for maternal weight gain in Chinese women. J Am Diet Assoc 2000;100:791-796.
- Stevens-Simon C and McAnarney ER. Determinants of weight gain in pregnant adolescents. J Am Diet Assoc 1992; 92(11):1348-1351.
- Thompson FE and Byers T. Dietary Assessment Resource Manual. J Nutr 1994;124:2245S-2317S.
- Ministerio de Salud y Desarrollo Social. Instituto Nacional de Nutrición. Dirección Técnica. División de Investigaciones en Alimentos. Tabla de Composición de Alimentos para Uso Práctico. Publicación N° 54. Serie de Cuadernos Azules. Caracas. Venezuela. Revisión 1999. Primera reimpresión. Enero 2001.

15. Subar AF, Block G and James LD. Folate intake and food sources in the US population. *Am J Clin Nutr* 1989; 50:508-16.
16. Comisión Nacional de Alimentación (CONAL). Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubirán. Tabla de uso práctico del valor nutritivo de los alimentos de mayor consumo en México.. Segunda edición revisada, Ciudad de México DF, 1992.
17. Ministerio de Salud y Desarrollo Social. Instituto Nacional de Nutrición. Valores de referencia de energía y nutrientes para la población venezolana. Caracas, Venezuela. Publicación No. 52. Serie Cuadernos Azules. Revisión 2000.
18. Recommended Dietary Allowances. 10th Edition. National Academy Press. Washington. 1989.
19. Gibson R. Evaluation of nutrient intake data. Chapter 8. In: Principles of Nutrition Assessment. Oxford University Press:137-154.1990.
20. Subar AF, Thompson FE, Smith AF, Jobe JB, Ziegler RG, Potischman N, Schatzkin A, Hartman A, Swanson C, Kruse L, Hayes RB, Riedel D, and Harlan LC. Improving food frequency questionnaires: A qualitative approach using cognitive interviewing. *J Am Diet Assoc* 1995; (95):781-788.
21. Block G, Subar AF. Estimates of nutrient intake from a food frequency questionnaire: The 1987 National Health Interview Survey. *J Am Diet Assoc* 1992; 92:969-977.
22. Wayne W. Daniel. Nonparametric and distribution-free statistics. En: Biostatistics: A foundation for analysis in the health sciences. Chapter 11. 5^a Ed. Canada. John Wiley & Sons. 1991.p 596-7
23. Flores M, Melgar H, Cortéz C, Rivera M, Rivera J y Sepúlveda J. Consumo de energía y nutrimentos en mujeres mexicanas en edad reproductiva. *Salud Pública de México* 1998; 40(2):161-171.
24. Armstrong JE and Weijohn TT. Dietary quality and concerns about body weight of low-income pregnant women. *J Am Diet Assoc* 1991;91(10):1280-82.
25. Skinner JD and Carruth BR. Dietary quality of pregnant and nonpregnant adolescents. *J Am Diet Assoc* 1991;91:718-720.
26. Skinner JD and Carruth BR, Pope JF, Varner L and Goldberg D. Food and nutrient intake of white, pregnant adolescent. *J Am Diet Assoc* 1992; 92(9):1127- 1129.
27. Monge-Rojas R and Nuñez HP. Dietary calcium intake by a group of 13 -18 year-old Costa Rican teenagers *Arch Latinoam Nutr* 2000; 51(2): 127-131.
28. Mikode MS and White AA. Dietary assesment of middle-income pregnant women during the first, second and third trimesters. *J Am Diet Assoc* 1994;94(2):196-199.
29. Rozen GS, Rennert G, Rennert HS, Diab G, Daud D and Ish-Shadom S. Calcium intake and bone mass development among Israeli adolescent girls. *J Am Coll Nutr* 2001; 20 (3):219-224.
30. Lynch SR. The potential impact of iron supplementation during adolescence on iron status in pregnancy. *J Nutr* 2000; 130:448S-451S.
31. Swenses AR, HarnackLJ and Ross JA. Nutritional assessment of pregnant women enrolled in the special supplemental program for women, infants and children (WIC). *J Am Diet Assoc*2001;101:903-908.
32. Stevens-Simon C and McAnarney ER. Adolescent maternal weight gain and infant outcome. *Am J Clin Nutr* 1988;47:948-953.
33. Proyecto Venezuela. Estudio Nacional de Crecimiento y Desarrollo Humano de la República de Venezuela. Ministerio de la Secretaria. Tomo III. pp 1032-1136. FUNDACREDESA. 1996.
34. Johnston CS, and Kandell LA. Prepregnancy weight and rate of maternal weight gain in adolescents and young adults. *J Am Diet Assoc* 1992; 92(12):1515-1517.
35. Abrams B. Weight gain and energy intake during pregnancy. *Clinical Obstetrics and Gynecology* 1994; 37(3):515-527.

Recibido: 25-02-2002

Aceptado:24-04-2003

Perfil de riesgo nutricional en la adolescente embarazada

Evelyn Peña, Armando Sánchez y Liseti Solano

Centro de Investigaciones en Nutrición. Universidad de Carabobo. Valencia -Venezuela

RESUMEN. Con el objeto de examinar los componentes antropométricos, hematológicos y dietéticos para identificar el perfil de riesgo nutricional en embarazadas adolescentes de bajo nivel socioeconómico, se estudiaron 215 jóvenes (16,9 ±0,7 años), (rango 13-18 años) en su primer trimestre de gestación, en la Maternidad del Sur de Valencia, Venezuela. Se obtuvieron datos socioeconómicos, antropométricos: peso pregestacional, peso actual, talla actual, circunferencia de brazo (CB), pliegue tricótipal (PT), área grasa (AG), área muscular (AM) e índice de masa corporal pregestacional (IMCP); bioquímicos: hemoglobina y ferritina; y dietéticos (2 recordatorios de 24 horas). Según la edad se clasificaron en 2 grupos: grupo 1 (13 a 15) y grupo 2 (16 a 18 años). Para evaluar el perfil de riesgo nutricional se consideró: Edad ginecológica < 4 años, IMCP <19,8 kg/m², talla < percentil 10 de la referencia, Hb < 11 g/dl y ferritina < 12 µg/l. El 96,3% clasificó en pobreza. 83,3% estaban solteras, un 83,3% cursaba educación básica previo al embarazo y un 84,1% se desempeñaba en oficios del hogar. Según grupos de edad, hubo diferencias significativas (p<0.001) para edad ginecológica y edad de menarquia. Los valores promedios de variables antropométricas, bioquímicas y dietéticas no mostraron diferencias estadísticamente significativas según la edad. En riesgo nutricional se observa que el 35,3 % tenía edad ginecológica menor de 4 años, el 23,3 % presentó talla < percentil 10, el 36,3% mostró un IMCP <19,8 kg/m², el 26,5% tuvo un CB < del percentil 10, el 13,7% mostró Hb < 11 g/dl y el 18,4% de ferritina < 12 µg/l. En el 87,3% se observó un aporte de energía por debajo de la recomendación y la vitamina A y C, el calcio y el zinc se encontraron deficientes en el 36,3%, 25,9%, 88,7% y 73,5% respectivamente. Se observó en el grupo la presencia de factores de alta vulnerabilidad (edad, pobreza, bajo peso, anemia y déficit de energía y nutrientes). El diagnóstico temprano permite identificar dicho riesgo y monitorear la evolución de la gestación.

Palabras clave: Adolescencia, embarazo, riesgo nutricional.

SUMMARY. Nutritional risk in pregnant adolescents. A sample of 215 adolescents (16.9±0.7 y; 13-18 y) from a low socioeconomic level of Valencia, Venezuela, at their first trimester of pregnancy were studied in order to identify nutritional risk. Socioeconomic, anthropometrical, hematological and dietary characteristic were assessed. Pregestational weight, actual weight, height, arm circumference (AC), triceps skin fold (TS), fat and muscle area (FA/MA) and pregestational body mass index (PBMI) were determined. Hemoglobin (Hb) and ferritin were measured by colorimetric and ELISA methods. Two 24 hour recalls were obtained. According to age, two groups were created. Pregnant adolescents were grouped by age: Group 1, 13 to 15 years old and Group 2, 16 to 18 years old. Nutritional risk was defined as: Gynecological age lower than 4 years since menarche, PBMI < 19.8 kg/m², height below 10th Percentile of reference, Hb below 11 g/dL and ferritin < 12 µg/L. Almost all the adolescents (96.3%) were in poverty. 83.3% were single, 83.3% were at elementary school before pregnancy but 84.1% were attending house chores at the time of exam. There were significant differences (p<0.001) for gynecological age and menarche age, but not for anthropometrical, hematological and dietary variables when Group 1 was compared to group 2. 35.3% of the adolescents had a gynecological age lower than 4 years, 23.3% were below 10th percentile for height, 36.3% had a PBMI lower than 19.8 kg/m², 26.5% were below 10th percentile for arm circumference, anemia was present in 13.7% and low levels of ferritin in 18.4% of the adolescents. Calorie intake was below recommendation in 87.3% and adequacy for vitamin A and C, calcium and zinc were below 2/3 of recommendation in 36.3%, 25.9%, 88.7% and 73.5% of the adolescents respectively. Studied adolescents had a high prevalence of risk factors for nutritional deficiencies (short age, poverty, low weight, anemia and deficient intake). Early assessment of this conditions allows to identify the risk, to establish interventions and to monitor pregnancy evolution. **Key words:** Adolescence, pregnancy, nutritional risk.

INTRODUCCION

La adolescencia es un período significativo en el ser humano, caracterizado por rápidos y profundos cambios en el crecimiento físico, la maduración y el desarrollo psicosocial, lo que necesariamente requiere de ajustes y adaptaciones que permitan al adolescente integrarse armónicamente al medio ambiente (1). La adolescencia comienza con la pubescencia que es el signo más temprano

del desarrollo de las características sexuales secundarias y continúa con los cambios morfológicos y fisiológicos hasta aproximarse a la edad adulta, usualmente cerca del final de la segunda década de la vida (2). Es una etapa que señala la entrada del individuo joven al mundo de los adultos y entre los retos que debe enfrentar la adolescente, está el despertar a la sexualidad, su susceptibilidad al embarazo y la maternidad, con las consecuencias negativas tanto en el aspecto biológico como en el social. Las estadísticas muestran

que el embarazo en las adolescentes se ha convertido en uno de los principales problemas de salud pública en muchos países de la región (3).

Venezuela ha visto incrementar el número de adolescentes embarazadas a más temprana edad, lo que aumenta su riesgo obstétrico. Para 1994, según la Oficina Central de Estadística e Informática, (OCEI) (4), el 19,6% de los nacimientos vivos provenían de madres menores de 19 años, cifra que para el estado Carabobo fue de 19,1%. Para los años 1998 y 1999, el 11% y 12% de las embarazadas que fueron atendidas por parto normal en la Maternidad del Sur "Dr. Armando Arcay", de la ciudad de Valencia, correspondió a menores de 18 años.

Datos obtenidos en la Ciudad Hospitalaria "Dr. Enrique Tejera" de Valencia, muestran que para el mismo año el 23% de los nacimientos correspondió a adolescentes menores de 19 años y de ellas el 13% tenían edades comprendidas en los 12 y 15 años.

Aquellas adolescentes que se embarazan antes de alcanzar la madurez fisiológica, es decir, en los cuatro años siguientes a la menarquia, están en situación de alto riesgo nutricional, ya que deben satisfacer las necesidades de energía y nutrientes de su crecimiento y además, cubrir las demandas propias del embarazo. Adicionalmente una edad ginecológica menor de dos años las ubica en muy alto riesgo para problemas asociados con el embarazo (5). Estudios indican que entre las adolescentes embarazadas puede haber competencia con el feto por los nutrientes, y muestran que es más frecuente encontrar productos de embarazo con bajo peso, alta mortalidad y morbilidad entre adolescentes que en mujeres adultas (6).

La edad, la estatura, el peso pregestacional, la baja ganancia de peso, la anemia, la paridad y el aporte inadecuado de energía y nutrientes, colocan a las adolescentes embarazadas doblemente en riesgo nutricional, ya que no solo está presente el continuo crecimiento materno, sino también el crecimiento del feto (7).

La evidencia sugiere que el estado nutricional materno es un factor modificable que puede afectar seriamente tanto la salud de la madre como la del feto, más aún conociendo que los requerimientos maternos están aumentados por el crecimiento y desarrollo (5).

Es común observar entre adolescentes patrones de comidas irregulares y deficientes en vitaminas y minerales y aún cuando se ha encontrado que las adolescentes consumen dietas que pudieran ser adecuadas en energía, son bajas en cinc, hierro y otros nutrientes (8).

Con base en lo antes mencionado y considerando la poca disponibilidad de referencias a nivel nacional tanto de la situación de embarazo en las adolescentes como sobre el riesgo nutricional, se decidió evaluar el perfil de riesgo de las adolescentes embarazadas durante el primer trimestre de embarazo.

METODOLOGIA

Sujetos

El estudio fue conducido en la Maternidad del Sur "Dr. Armando Arcay", institución de servicio público, ubicada en la zona Sur de la ciudad de Valencia, dependiente de la Fundación Instituto Carabobeño para la Salud (INSALUD) y cuya característica principal es el alojamiento conjunto (madre-hijo). Como parte de un estudio prospectivo longitudinal que se inició en 1997, se realizó un corte transversal en el primer trimestre de embarazo. Los datos se presentan para 215 embarazadas que cumplieron con los criterios de inclusión: embarazo simple, primer trimestre de embarazo y no presentar cuadro clínico asociado. Todas las embarazadas recibieron educación nutricional como parte de los cuidados prenatales en la maternidad y de acuerdo al protocolo del trabajo.

Evaluación nutricional

Sociodemográficos: A cada embarazada le fue evaluado tanto el estrato social según el método Graffar modificado por Méndez Castellano (9) como las características personales: estado civil, nivel educativo alcanzado, ocupación actual, paridad, hábitos de alcohol, suplementación, drogas, cigarrillo y café.

Clínico-antropométrica: edad actual (EA), edad gestacional (EG) calculada en semanas según la fecha del último período menstrual reportado por la embarazada; edad de menarquia (EM) y edad ginecológica (EGin) calculada como el tiempo de intervalo entre la edad de menarquia y la fecha de la concepción (5).

Las variables antropométricas de dimensión corporal evaluadas fueron: peso pregestacional (PP), peso actual (PA), talla actual (TA), circunferencia de brazo izquierdo (CBI) y pliegue tricótipal (PT). En composición corporal fueron: área muscular (AM), área grasa (AG) y el índice de masa corporal pregestacional (IMCP).

Las mediciones fueron realizadas por dos investigadores debidamente entrenados y estandarizados, utilizando las técnicas recomendadas (10). Cada una de las jóvenes fue pesada y medida sin zapatos y con el mínimo de ropa. Para el peso se utilizó una balanza con escala graduada, marca DETECTO, registrándose éste al 0,1kg más cercano. La talla se midió con una cinta métrica no extensible (plástico) fijada a una pared, señalando el tope con una escuadra en ángulo recto, con la persona con los hombros en posición relajada y los brazos colgantes. Los valores de peso y talla se expresaron en kilogramos y centímetros respectivamente. La circunferencia de brazo se tomó con una cinta métrica flexible, marcando un punto medio entre el borde inferior del acrómion y la apófisis del olécranon. El pliegue tricótipal se midió a nivel del punto medio, en la cara posterior del

brazo, mediante el uso de un calibrador Lange y durante tres oportunidades, obteniéndose un valor promedio (10).

El área grasa y el área muscular se estimaron de acuerdo a las referencias y fórmulas de Frisancho (11) y el índice de masa corporal pregestacional fue calculado según la fórmula: peso pregestacional/talla², considerándose como punto de corte: Bajo < 19,8 kg/m², Normal de 19,8 a 26,9 kg/m² y Exceso (27,0 kg/m²) (12). El peso pregestacional fue obtenido por recordatorio en el 90% de las embarazadas y correspondió al peso que la adolescente había tenido antes del embarazo. Para el 10% restante se consideró el peso de la primera visita en el primer trimestre, como lo refirió Neuman que si la madre desconoce el peso pregestacional, el peso tomado en las primeras 12 semanas pudiese ser tomado como de inicio (13).

Laboratorio

Se extrajeron 3 ml de sangre venosa, después de un ayuno de 12 horas, los cuales se recolectaron en tubos nuevos libres de elementos traza para la determinación de hemoglobina, utilizando un contador semi-automatizado (Symex) con anticoagulante EDTA y la ferritina por el método de enzimo inmunoensayo (14). Se consideró anemia en el primer trimestre de embarazo, cuando las embarazadas adolescentes presentaron hemoglobina menor a 11 mg/dl (15); deficiencia de hierro cuando la ferritina era menor a 12 µg/l y anemia por deficiencia de hierro (Hemoglobina menor a 11 mg/dl y ferritina menor a 12µg/l) (16).

Dietética

El aporte dietético fue evaluado utilizando el método de recordatorio de 24 horas durante dos días no consecutivos. Para el análisis de energía, macro y micronutrientes se utilizó un programa computarizado donde además de los nutrientes contenidos en la Tabla de Composición de Alimentos de Venezuela (17), se han incorporado los valores para otros elementos de la tabla de composición de alimentos de México (18). Los valores individuales de energía y nutrientes fueron revisados basándose en recomendaciones nacionales (19) e internacionales (20), aún cuando las comparaciones se realizaron contra las nacionales. Se uso para energía, la ecuación para el grupo de adolescentes (femenino) de 10 a 18 años, que determina el gasto energético en reposo (GER), definiendo para este grupo la actividad "ligera" con un factor de actividad de 1,5. Como punto de corte de riesgo de deficiencia para vitaminas y minerales se usó el criterio de 2/3 de la recomendación dietética (21) aplicado sobre las recomendaciones nacionales. Cabe destacar que para establecer la adecuación de energía y nutrientes se partió de la recomendación básica para el grupo etario, sin modificación por embarazo ya que estaban en el primer trimestre.

Perfil de riesgo

A los fines del estudio, se considera riesgo la presencia de al menos una de las siguientes variables: Edad ginecológica < 4 años (8), talla < del percentil 10 de Frisancho para el grupo de 13 a 18 años (11), IMCP <19,8 kg/m² (12, 22), Hb < 11 g/dL y ferritina < 12 µg/L (15,16, 23). Con el fin de comparar los resultados, los datos se presentan clasificando las adolescentes en dos grupos de edad: Grupo 1 (13 a 15 años) y Grupo 2 (16 a 18 años).

Pruebas estadísticas

Las estadísticas descriptivas fueron generadas usando un programa SPSS (versión 8.0 para Windows), valores que se expresan como media y desviación estándar según grupos. Se utilizó la prueba de t de Student para muestras independientes, análisis de varianza y distribución percentilar. La normalidad de las variables energía y nutrientes fue revisada con la prueba de Kormogorov- Smirnov y se usó la prueba de Mann- Whitney para datos no paramétricos(24). En todos los casos el nivel de significancia estadística se fijó con una p <0,05.

RESULTADOS

La selección de las adolescentes se realizó en el primer trimestre de embarazo, con una edad gestacional promedio de 12,1± 2,7 semanas. La edad promedio de las adolescentes según grupos fue de 14,5± 0,6 años en el grupo 1, en una proporción de un 21,9% (n= 47), mientras que en el grupo 2 fue de 16,3± 1,2 años, 78,1% (n=168). La Tabla 1 muestra los datos sociodemográficos según edad, donde resalta un elevado porcentaje de adolescentes que se ubican en pobreza (96,3%), con un 83,3% de adolescentes solteras, de las cuales el 83,3% ($\chi^2= 0,009$) solo alcanzaron la educación básica y que al salir embarazadas abandonaron la escuela y se desempeñan actualmente en oficios del hogar (84,1%). Según la paridad, 84,7% son primíparas y el 15,3% son multióparas, lo que las ubica en mayor riesgo nutricional, dados los embarazos previos. El 36,3% ($\chi^2= 0,017$) refirió estar usando suplementos. El 22,8% de las adolescentes reportó consumir alcohol y el 69,2% café. No refieren consumo de drogas.

En la Tabla 2 se presenta la distribución percentilar (p25, p50 y p75) y los valores promedios de los parámetros antropométricos y bioquímicos, observándose que con relación a los antropométricos, en ambos grupos de edad, los valores medios se ubican dentro de los rangos del percentil 50 tanto de la referencia nacional como internacional (25,11). Las variables antropométricas no mostraron diferencias significativas según la edad, aún cuando el grupo de 16 a 18 años presenta valores para IMCP, circunferencia de brazo, pliegue tricótipal y área grasa levemente inferiores al grupo de 13 a 15 años. En cuanto a las variables bioquímicas, el percentil 50 del grupo tanto para la hemoglobina como para

la ferritina fue similar en ambos grupos de edad, con ligera tendencia a la baja para la ferritina.

TABLA 1
Características sociodemográficas de las adolescentes embarazadas. Valencia, Venezuela

	Edad			Chi ²
	13- 15 años (n= 47, %)	16-18 años (n=168, %)	Total (n=215, %)	
Estrato social				
Media	1 (12,5)	7 (87,5)	8 (3,7)	0,751
Pobreza relativa	33 (21,6)	120 (78,4)	153 (71,2)	
Pobreza crítica	13 (24,1)	41 (75,9)	54 (25,1)	
Estado civil				
Solteras	39 (21,8)	140 (78,2)	179 (83,3)	0,954
Casadas	8 (22,2)	28 (77,8)	36 (16,7)	
Nivel educativo				
Básico	45 (25,1)	134 (74,9)	179 (83,3)	0,009
Diversificado	2 (5,6)	34 (94,4)	36 (16,7)	
Ocupación				
Oficios del hogar	38 (21,1)	142 (78,9)	180 (84,1)	0,568
Estudiante	7 (30,4)	16 (69,6)	23 (10,7)	
Otros	2 (12,0)	9 (88,0)	11 (5,2)	
Paridad				
Primípara	44 (24,2)	138 (75,8)	182 (84,7)	0,054
Múltipara	3 (9,1)	30 (90,9)	33 (15,3)	
Recibe suplementos	24 (30,8)	54 (69,2)	78 (36,3)	0,017
Habito de alcohol				
Si	10 (20,4)	39 (79,6)	49 (22,8)	0,780
No	37 (22,3)	129 (77,7)	166 (77,2)	
Hábito de café				
Si	37 (24,8)	112 (75,2)	149 (69,3)	0,131
No	10 (15,2)	56 (84,8)	66 (30,8)	

No refieren consumo de drogas ni cigarrillos.

TABLA 2
Características maternas sen parámetros antropométricos y bioquímicos^a. embarazadas adolescentes. Valencia, Venezuela

	Percentiles ^b			Edad 13 -15 años	Total 16-18 años	n = 215	t
	25	50	75				
Edad Actual (años)	16	17	17	14,5 ± 0,6	16,3 ± 1,2	16,9 ± 0,7	0,000
Edad Ginecológica (años)	3	4	5	2,9 ± 1,1	4,0 ± 1,5	4,3 ± 1,4	0,000
Edad Menarquia (años)	11	12	13	11,5 ± 1,1	12,1 ± 1,2	12,3 ± 1,2	0,000
Peso Pregestacional. (kg)	47	51	55	51,5 ± 8,7	51,6 ± 7,3	51,6 ± 7,0	0,929
Talla actual (cms)	153,5	157,0	160,5	156,0 ± 5,0	156,9 ± 5,6	157,2 ± 5,8	0,227
IMCP (kg/m ²)	18,9	20,8	22,4	21,0 ± 2,0	20,9 ± 2,6	20,8 ± 2,6	0,664
Circunf. Brazo (cms)	23,0	24,5	26,5	25,0 ± 3,0	24,8 ± 2,6	24,8 ± 2,5	0,562
Pliegue Tricipital (mm)	13	16	20	18,1 ± 5,9	17,1 ± 5,5	16,9 ± 5,4	0,166
Area Grasa (cm ²)	14,2	17,2	23,6	20,6 ± 8,6	19,3 ± 7,6	19,0 ± 7,3	0,211
Area Muscular (cm ²)	26,3	30,2	34,0	30,2 ± 6,2	30,4 ± 5,5	30,5 ± 5,3	0,694
Hemoglobina (g/dL)	11,5	12,1	12,8	12,0 ± 0,9	12,0 ± 1,0	12,0 ± 1,1	0,794
Ferritina (µg/L)	15,7	27,3	43,5	30,6 ± 18,5	34,0 ± 28,3	34,9 ± 30,5	0,794

^a X ± DS ^b Percentiles (25, 50, 75) del grupo estudiado.

La Tabla 3 muestra la distribución percentilar (p25, p50 y p75) y los valores promedios para energía, macro y micro nutrientes, grupos de edad. Del mismo se destaca que los valores promedios para los diferentes elementos en ambos grupos se ubican cercanos al percentil 50 del grupo; sin embargo las adolescentes entre 13 y 15 años registraron aportes, de energía, macro y micronutrientes, pero no significativos, inferiores a los reflejados por el grupo de 16 a 18 años, con excepción del calcio y el zinc.

Al evaluar el perfil de riesgo presente en este grupo (Gráfico 1) se observa que el 35,3 % de las adolescentes tenía una edad ginecológica promedio menor de 4 años, siendo las del grupo 1 (44,7%) las más vulnerables de riesgo. El 23,3 % de las jóvenes tuvo una talla promedio inferior al percentil 10 de la referencia (11). El 36,3% inició su embarazo con un IMCP < 19,8 kg/m². El 26,5% mostró un CB < del percentil 10. El 13,7% de las embarazadas presentaba anemia y el 18,4% tuvieron valores de ferritina < 12 µg/L. El 87,3% mostró un aporte de energía por debajo de la recomendación promedio para el grupo durante el primer trimestre de embarazo y la vitamina A y C, el calcio y el zinc se encontraron en riesgo de deficiencia (< 2/3 de recomendación) en el 36,3%, 25,9%, 88,7% y 73,5% de las jóvenes estudiadas, respectivamente. No se encontró correlación entre las variables antropométricas, bioquímicas y dietéticas. Como se observa, el perfil de riesgo nutricional fue más frecuente en las adolescentes entre 16 y 18 años.

TABLA 3
Aporte de energía macro y micronutrientes de la dieta. embarazadas adolescentes. Valencia, Venezuela

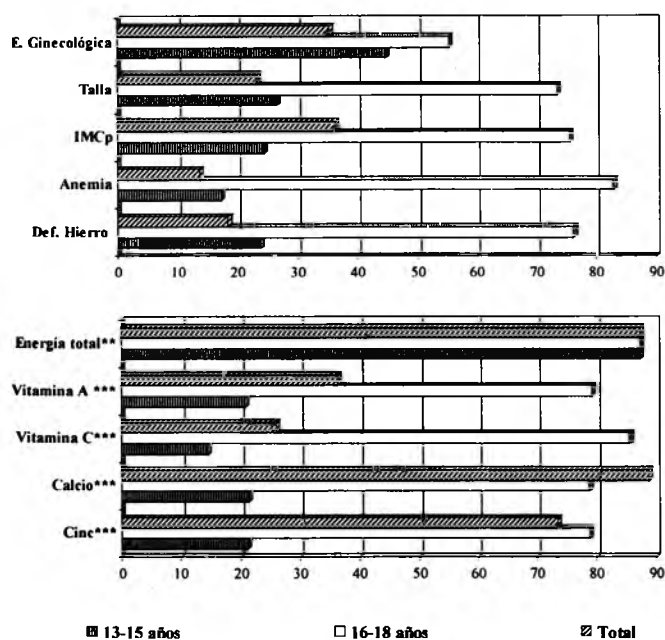
	Percentiles ^a			13 – 15 Años (n= 47)		16 – 18 Años (n=168)		Total (n=215)	
	25	50	75	Media	DE	Media	DE	Media	DE
Energía Kcal	1372	1638	1897	1586 ± 410		1644 ± 402		1632 ± 403	
% Proteínas	12	13	15	13,6		13,3		13,3	
% Grasas	21	25	29	24,0		25,6		25,1	
% Carbohidratos	58	62	66	62,3		61,0		61,2	
Proteínas (g/d)	43,6	55,2	66,2	54,9 ± 15,5		55,7 ± 15,4		55,5 ± 15,4	
Grasas (g/d)	35,3	44,8	59,8	44,0 ± 16,6		51,5 ± 13,9		47,5 ± 17,7	
Carbohidratos (g/d)	212	250	299	242,1 ± 63,9		247,3 ± 62,0		257,3 ± 65,6	
Vitamina A (ER/d)	521,7	859,5	1399,5	1213,8 ± 1364		879,5 ± 538,3		1094,6 ± 1011	
Vitamina C (mg/d)	37,3	89,4	160,2	114,3 ± 87,2		116,3 ± 100,8		111,7 ± 100,1	
Calcio (mg/d)	310,2	448,0	627,0	475,2 ± 182,3		550,4 ± 268,9		491,9 ± 240,3	
Hierro (mg/d)	12,4	15,8	19,3	16,1 ± 5,4		17,4 ± 6,0		16,3 ± 5,7	
Zinc (mg/d)	6,2	7,9	10,3	8,0 ± 2,5		7,7 ± 2,3		8,5 ± 3,8	

Requerimiento energético promedio calculado para este grupo (2074 Kcal/d)

^a Percentiles (25-75) del grupo estudiado "t" Student (no significativa).

GRAFICO 1

Factores de riesgo presentes en embarazadas adolescentes



(Edad ginecológica $\chi^2 = 36,01$ $p < 0,000$)

** Inferior al requerimiento energético promedio calculado para este grupo.

*** < 2/3 de la Recomendación para Vit. A, Vit C, calcio y cinc.

DISCUSION

El embarazo en la adolescencia implica una situación compleja desde el punto de vista psicosocial, biológico y nutricional, lo que habitualmente se traduce en mayores riesgos maternos y perinatales. En Venezuela se ha observado un incremento del número de adolescentes embarazadas a más temprana edad, lo que aumenta su riesgo obstétrico. Según la Oficina Central de Estadística e Informática (OCEI) (4), el 19,6% de los recién nacidos vivos provienen de madres menores de 19 años. Dada la poca información que a nivel nacional existe fundamentalmente en relación con las características biológicas y nutricionales de este grupo etario, es que se planteó la necesidad de evaluar el perfil de riesgo de las adolescentes en etapas tempranas del embarazo y así prevenir la ocurrencia de efectos adversos tanto para la madre como para el producto. Al examinar las características sociodemográficas del grupo estudiado encontramos una mayoría de jóvenes de bajo nivel socioeconómico y en pobreza (96,3%), donde un alto porcentaje estaban solteras (83,3%) y con bajo nivel de escolaridad (84,9%) solo habían alcanzado hacer 9 años de escolaridad, lo cual es bajo para la edad. El 84,1% no tenía ocupación definida ya que manifestaron haber abandonado los estudios al conocer que estaban embarazadas. Como ha sido mostrado en diferentes estudios, cada uno de estos aspectos tiene sus efectos importantes sobre la madre y en especial si es adolescente, aumentando los riesgos durante el embarazo; así como sobre el peso del producto y sus posibilidades de desarrollo futuro (26-28).

En este estudio, aún cuando los valores promedios de

edad de menarquia y edad ginecológica mostraron diferencias significativas respecto a los grupos de edad, la edad de menarquia fue ligeramente mas baja que la edad promedio nacional (12,6 años) (29) y a las de adolescentes de EEUU y Japón de 12,1 a 13,0 años (8, 30). El valor promedio para la edad ginecológica fue también menor ($4,0 \pm 1,5$ años) a los reportados por otros autores (7, 31). Un 35,3% de las adolescentes estudiadas tenían menos de cuatro años de edad ginecológica, hallazgo similar a otros estudios que sugieren que las adolescentes embarazadas en estas circunstancias están en alto riesgo nutricional, ya que son más susceptibles de presentar complicaciones obstétricas y nacimientos de bajo peso, entre otros porque no han alcanzado su madurez fisiológica y tienen que satisfacer las necesidades para su crecimiento y las demandas de energía y nutrientes por el embarazo (8,32).

Las madres adolescentes son más pequeñas y de menor peso a la concepción que las madres adultas y la estatura baja en estas madres pudiera ser un reflejo de maduración temprana, de la continuación del crecimiento puberal actual o de desnutrición pasada. Así mismo existen evidencias de diferentes fuentes que indican que las madres de talla baja probablemente presentan mayor riesgo de tener recién nacidos de menor estatura y de bajo peso independientemente de la edad materna (33).

Datos del Centro de Investigaciones en Nutrición (1998) reportaron que madres adultas caracterizadas como talla baja, tuvieron productos significativamente con menor peso, que las de talla normal (34). En nuestro estudio el valor promedio de la talla ($156,9 \pm 5,6$ cms) corresponde al de la adolescente venezolana no embarazada (29), pero es menor al del percentil 25 de talla para la edad según la referencia del Centro de Estadísticas de Salud de los EEUU (National Center for Health Statistics (NCHS) como lo refiere Frisancho (11). De igual manera, el 23,3% de las adolescentes presentaron una estatura menor al percentil 10 de la referencia (11), punto de corte considerado de alto riesgo de complicaciones durante el embarazo (35). Esta prevalencia fue menor a la observada por Arcos (36) y superior a la mostrada en adolescentes de Sao Paulo, Brasil (37).

El peso pregestacional es una variable que esta directamente relacionada con la nutrición materna y con la incidencia de bajo peso al nacer (37), de ahí que el peso pregestacional, la duración del embarazo y la estatura materna son significativos predictores de la ganancia de peso. En el presente trabajo se observa que el peso promedio ($51,6 \pm 7,3$ kg) de las adolescentes fue superior al percentil 50 de la referencia nacional (29), e inferior a la referencia de Frisancho (11). El Índice de masa corporal pregestacional para nuestro estudio muestra un valor promedio menor al encontrado en adolescentes embarazadas de Chile, Brasil y Puerto Rico (36,38), pero sobre el percentil 50 de la referencia (11). No

obstante, el estado nutricional pregestacional nos indica que un 36,3% de las adolescentes iniciaron su embarazo con peso bajo, proporción muy superior al encontrado por Arcos (36) y Borah (39); lo anterior nos estaría indicando que estas jóvenes pueden haber sido desnutridas en su niñez y han permanecido así hasta su edad reproductiva, tal como es referido por otros autores (27, 40).

En América Latina, del 10 al 30% de las mujeres en edad reproductiva y por encima del 40-70% de las mujeres embarazadas pueden tener deficiencia de hierro (41). En Venezuela una proporción significativa de la población sufre de anemia y deficiencia de hierro, especialmente los niños y las embarazadas (42).

Durante la adolescencia existe una elevada demanda de hierro por el crecimiento acelerado y las pérdidas menstruales y si sumamos a esto la necesidad de hierro por el embarazo, aumentan aún más los requerimientos diarios, los cuales difícilmente pueden ser aportados por la dieta, incrementándose como consecuencia el riesgo de una deficiencia de hierro (37,43,44). En este grupo, el valor promedio para la hemoglobina se encontró dentro del rango normal, similar al obtenido en adolescentes venezolanas no embarazadas y en embarazadas adultas (29, 45). Sin embargo, se observó una prevalencia de anemia ($Hb < 11$ g/dL) en el 13,6% de las adolescentes, cifra ligeramente más baja que las reportadas por Rebolledo (3) y Fujimori (38), pero similar a los rangos obtenidos en otros países que oscilan entre 9 y 14% (13,46,47).

La deficiencia de hierro valorada por la concentración de ferritina (< 12 μ g/L) estuvo presente en el 18,4% de las adolescentes, cifra inferior a la reportada por Fujimori (38), pero superior a la reportada por otros investigadores (46, 48). No obstante la baja prevalencia de adolescentes anémicas y deficientes de hierro, evidencia que estando las adolescentes en sus primeras semanas de embarazo, no había transcurrido el tiempo necesario para que se depletaran las reservas de hierro y por otro lado la expansión del volumen plasmático es menor, si se compara con el segundo y tercer trimestre (15,23,44). Por otro lado, las variaciones en torno a las prevalencias en los diferentes trabajos puede tener su origen en el muestreo (no se clasifica por edad) y en muchos casos, no se indica la edad gestacional en que se realiza el examen, lo que pudiera afectar la prevalencia de la anemia. En el presente trabajo el aporte de hierro dietético estuvo dentro de la recomendación, aún cuando este corresponde fundamentalmente a hierro no hem, de baja biodisponibilidad.

Aunque el embarazo en adolescentes impone un aumento del riesgo tanto para la madre como para el niño, no está claro si ello es debido a la juventud de la madre o a factores sociales externos entre los cuales estarían: inadecuada nutrición, bajo peso pregestacional y una pobre ganancia de

peso durante el embarazo. Hay suficientes evidencias que muestran que las adolescentes embarazadas no difieren de sus contemporáneas no embarazadas en exhibir patrones dietéticos inadecuados (8), de ahí que, aquellas pertenecientes a grupos de bajo nivel socioeconómico, tienen substancialmente consumos más bajos en energía y nutrientes como vitamina A, calcio y zinc, que lo recomendado, especialmente durante el embarazo (22). En este estudio, el valor promedio de energía (1632 ± 403 kcal), fue similar al registrado por adolescentes mexicanas no embarazadas (49), sin embargo estuvo fuera del rango de 1800 a 2800 kcals, observado por otros investigadores (39, 50), de igual manera se ubica por debajo de la recomendación en el 87,3% del grupo estudiado, donde hay predominio de adolescentes del grupo de 16 a 18 años.

La proporción de calorías provenientes de proteínas, grasas y carbohidratos (13%, 25% y 61% respectivamente), muestran que la dieta promedio fue equilibrada en composición de macronutrientes.

En las adolescentes se han reportado dietas deficientes en zinc y en menor grado calcio, vitaminas A y C (8, 50), siendo similares tanto en embarazadas como en no embarazadas. En el presente estudio se observó un aporte por debajo de los 2/3 de la recomendación para vitaminas A y C, calcio y zinc, lo que coincide con resultados de otros autores (39, 51). Estos hallazgos sugieren que el bajo aporte de energía observado durante esta primera etapa del embarazo en este grupo, sumado a un aporte inadecuado de proteínas y micronutrientes pudiera relacionarse no solo con hábitos alimentarios inadecuados, sino también con la presencia de factores característicos en esta etapa del embarazo (náuseas y vómitos) y con un bajo nivel socioeconómico.

En este estudio se observaron características de riesgo nutricional y reproductivo en la totalidad de las adolescentes, por las deficientes condiciones socioeconómicas, la edad, el bajo peso materno y el bajo aporte de energía y nutrientes. La evidencia presentada permite concluir que un diagnóstico temprano de la situación nutricional, además de identificar el perfil de riesgo de la embarazada, permite definir la intervención temprana más apropiada, ya sea a través de educación nutricional, asesoría nutricional o mediante la suplementación oportuna, de tal manera que exista un monitoreo de la evolución de la gestación, a fin de asegurar un embarazo saludable y un recién nacido preparado para la supervivencia en las mejores condiciones.

AGRADECIMIENTO

Los autores agradecemos la colaboración prestada en la realización del mismo, a las adolescentes por su constancia y paciencia, al personal de la Maternidad del Sur "Dr. Armando Arcay" y al equipo de profesionales del Centro de

Investigaciones en Nutrición.

Financiamiento recibido: Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad de Carabobo.

REFERENCIAS

1. WHO Technical Report Series 854. Physical Status: The use and interpretation of anthropometry. Report of a WHO Expert Committee. World Health Organization. Geneva, 1995.
2. De Onis M and Habicht J-P. Anthropometric reference data for international use: recomendations from a World Health Organization Expert Committee. *Am J Clin Nutr* 1996; 64:650-8.
3. Rebolledo A y Atalah E. Riesgos nutricionales en las embarazadas adolescentes. *Rev. Chil. Nutr* 1986;14(3):193-199.
4. Anuario Estadístico de Venezuela 1994. Oficina Central de Estadística e Informática. OCEI. República de Venezuela. Presidencia de la República, 1995.
5. ADA Reports. Nutrition management of adolescent pregnancy: Technical Support Paper. *J Am Diet Assoc* 1989; 89(1):105-108.
6. Frisancho R, Matos J and Flegel B. Maternal nutritional status and adolescent pregnancy outcome. *Am J Clin Nutr* 1983;38:739- 746.
7. Cherry FF, Sandstead HH, Rojas P, Johnson L, Batson H and Wang XB. Adolescent pregnancy: associations among body weight, zinc nutriture and pregnancy outcome. *Am J Clin Nutr* 1989;50:945-54.
8. Stang J, Story MT, Harnack L and Neumark- Sztainer D. Relationships between vitamin and mineral supplement use, dietary intake, and dietary adequacy among adolescents. *J Am Diet Assoc* 2000;100:905-910.
9. Méndez Castellano H y de Méndez MC. Sociedad y Estratificación. Método Graffar/ Méndez Castellano. Caracas, Venezuela, 1994.
10. Gibson R. Anthropometric assesment of growth Chapter 10. In: Principles of Nutrition Assessment. Oxford University Press: 163-186,1990.
11. Frisancho R. Anthropometric standards for the assessment of growth and nutritional status. Ann Arbor. The University of Michigan Press, 1990.
12. Institute of Medicine. Nutrition during pregnancy. Part I. Weight gain. Part II. Nutrient Supplements. National Academy Press. Washington, DC: 1-23, 1990.
13. Neuman C, Ferguson. L and Bwibo NO. Maternal anthropometry as a risk predictor of pregnancy outcome: the Nutrition CRSP in Kenya. *WHO Bulletin OMS: Supplement* 1995; 73: 91-95.
14. Gibson R. Nutritional Assessment. A Laboratory Manual. Oxford University Press, 1993.
15. Allen LH. Embarazo y deficiencia de hierro En: O'Donnell AM, Viteri FE y Carmuega E. Deficiencia de Hierro. Desnutrición Oculta en America Latina. CESNI. Buenos Aires, Argentina, 1997.

16. Zavaleta N, Caulfield LE and Garcia T. Changes in iron status during pregnancy in Peruvian women receiving prenatal iron and folic acid supplements with or without zinc. *Am J Clin Nutr* 2000;71: 956-61.
17. Ministerio de Salud y Desarrollo Social. Instituto Nacional de Nutrición. Dirección Técnica. División de Investigaciones en Alimentos. Tabla de Composición de Alimentos para Uso Práctico. Publicación N° 54. Serie de Cuadernos Azules. Caracas, Venezuela. Revisión 1999. Primera reimpresión. Enero 2001.
18. Comisión Nacional de Alimentación (CONAL). Instituto Nacional de la Nutrición "Salvador Zubiran". Tabla de uso práctico del valor nutritivo de los alimentos de mayor consumo en México. Segunda edición revisada, Ciudad de México DF, 1992.
19. Ministerio de Salud y Desarrollo Social. Instituto Nacional de Nutrición. Valores de referencia de energía y nutrientes para la población venezolana. Caracas, Venezuela. Publicación No. 52. Serie Cuadernos Azules. Revisión 2000.
20. National Academy Press. Recommended Dietary Allowances. 10th Edition. Washington, 1989.
21. Gibson R. Evaluation of nutrient intake data. Chapter 8. In: Principles of Nutrition Assessment. Oxford University Press pp: 137-154,1990.
22. Soltani H and Fraser RB. A longitudinal study of maternal anthropometric changes in normal weight, overweight and obese women during pregnancy and postpartum. *Brit J Nutr* 2000;84:95-101.
23. Allen LH. Anemia and Iron deficiency: effects on pregnancy outcome. *Am J Clin Nutr* 2000;71(suppl):1280S-4S.
24. Wayne W. Daniel. Nonparametric and distribution-free statistics. En: Biostatistics: A foundation for analysis in the health sciences. Chapter 11. 5ª Ed. Canada. John Wiley & Sons. 1991.p 596-7
25. Proyecto Venezuela. Estudio Nacional de Crecimiento y Desarrollo Humano de la República de Venezuela. Ministerio de la Secretaria. Tomo II. 407-600. FUNDACREDESA, 1996.
26. Muñoz de Chávez M, Urbina M, Rios A, Guarneros N, Martínez C, Soberanes B, Domínguez L y Chávez A. Impacto del embarazo temprano en el desarrollo biológico y social de adolescentes rurales. *Arch Latinoam Nutr* 1995;45(1-S):174-176.
27. Siega-Riz AM, Adair LS and Hobel CJ. Maternal underweight status and inadequate rate of weight gain during the third trimester of pregnancy increases the risk of preterm delivery. *J Nutr* 1996;126:146-153.
28. Dubois S, Coulombe C, Pencharz P, Pinsonneault O and Duquette P. Ability of the Higgins Nutrition Intervention Program to improve adolescent pregnancy outcome. *J Am Diet Assoc* 1997;97(8):871-878.
29. Proyecto Venezuela. Estudio Nacional de Crecimiento y Desarrollo Humano de la República de Venezuela. Ministerio de la Secretaria. Tomo III. 1226-1230. FUNDACREDESA, 1996.
30. Novotny R, Davis J, Ross PD and Wasnich RD. Adolescent milk consumption, menarche, birth weight and ethnicity influence height of women in Hawaii. *J Am Diet Assoc* 1996;96(8):802-804.
31. Stevens-Simon C and McAnarney ER. Determinants of weight gain in pregnant adolescents. *J Am Diet Assoc* 1992;92(11):1348-1351.
32. Scholl TO, Hediger ML, Schall JI, Khoo and Fischer RL. Maternal growth during pregnancy and the competition for nutrients. *Am J Clin Nutr* 1994;60:183-188.
33. Stevens-Simon C and McAnarney ER Adolescent maternal weight gain and low birth weight: a multifactorial model. *Am J Clin Nutr* 1998;47:948-53.
34. Sánchez A, Pontiles M, Meertens L y Solano L. Evaluación nutricional antropométrica de la madre en el post-parto inmediato y de su recién nacido. Informe presentado al Centro de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad de Carabobo.CDCHT-UC, Valencia, Venezuela. 1998.
35. Dufour D, Reina JC and Spurr GB. Energy intake and expenditure of free-living, pregnant Colombian women in an urban setting. *Am J Clin Nutr* 1999;70:269-76.
36. Arcos E, Olivo A, Romero J, Saldivia J, Cortez J y Carretta L. Relación entre el estado nutricional de madres adolescentes y el desarrollo neonatal. *Bol Oficina Sanit Panam* 1995;118(6):488-498.
37. Fujimori E, Vianna de Oliveira IM, Nuñez de Cassana LM y Cornbluth S. Estado nutricional de gestantes adolescentes en Sao Paulo, Brasil. *Arch Latinoam Nutr* 1997; 47(4):305-310.
38. Hediger ML, Scholl TO, Ances IG, Belsky DH and Wexberg R. Rate and amount of weight gain during adolescent pregnancy: associations with maternal weight-for-height and birth weight. *Am J Clin Nutr* 1990;52:793-9.
39. Borah J, Krug SK, Tsang RC Guo S, Miodovnik M and Prada J. Pregnant adolescent and adult women have similarly low intakes of select nutrients. *J Am Diet Assoc* 2000;100(11):1334-1340.
40. Kusin J, Kardiati S, Renqvist U and Goei K. Reproduction and Maternal Nutrition. Madura, Indonesia. *Tropical and Geographical Medicine* 1992;44:248-255.
41. Beard JL. Iron deficiency and neural development: An update. *Arch Latinoam Nutr* 1999; 49(3):34S-39S.
42. Fossi M, Méndez-Castellano H, Jaffé WG, Martínez-Torres C, Leets I, Taylor P y Layrisse M. Perfil hematológico y absorción del hierro de dietas que consume la población de estrato socioeconómico bajo de dos estados de Venezuela. *Arch Latinoam Nutr* 1987;37(1):22-36.
43. Kurz KM and Galloway. Improving Adolescent iron status before childbearing. Symposium: Improving adolescent iron status before childbearing. *J Nutr* 2000;130:437S-439S.
44. Lynch SR. The potencial impact of iron supplementation during adolescence on iron status in pregnancy. Symposium: Improving adolescent iron status before childbearing *J Nutr* 2000;130:448S-451S.
45. Organización Panamericana de la Salud. Plan de acción para el control de la anemia por carencia de hierro en las Américas. Oficina Sanitaria Panamericana. Oficina Regional de la Organización Mundial de la Salud, 1996.
46. Trugo NMF. Micronutrient regulation in pregnant and lactating women from Rio de Janeiro. *Arch Latinoam Nutr* 1997;47(2):30-34.
47. Himes Jh, Walker SP, Williams S, Bennett F and Grantham-McGregor SM. A method to estimate prevalence of iron

- deficiency and iron deficiency anemia in adolescent Jamaican girls. *Am J Clin Nutr* 1997;65(3): 831-836.
48. Scholl TO and Hediger ML. Anemia and iron-deficiency anemia: compilation of data on pregnancy outcome. *Am J Clin Nutr* 1994;59(suppl):492S-501S.
49. Flores M, Melgar H, Cortéz C, Rivera M, Rivera J y Sepúlveda J. Consumo de energía y nutrientes en mujeres mexicanas en edad reproductiva. *Salud Pública de México* 1998;40(2):161-171.
50. Stang J, Story MT, Harnack L and Neumark-Sztainer D. Relationships between vitamin and mineral supplement use, dietary intake and dietary adequacy among adolescents. *J Am Diet Assoc* 2000;100:905-910.
51. Osendarp SJM, Van Raaij JMA, Arifeen SE, Wahed MA, Baqui AH and Fuchs GJ. A randomized, placebo-controlled trial of the effect of zinc supplementation during pregnancy on pregnancy outcome in Bangladeshi urban poor. *Am J Clin Nutr* 2000;71(1):114-9.

Recibido:25-02-2002

Aceptado:24-04-2003

Estado de la nutrición de folato, vitamina B₁₂ y hierro en adolescentes embarazadas

María Adela Barón, Liseti Solano, Evelyn Peña, Alba Morón

Centro de Investigaciones en Nutrición "Dr. Eleazar Lara Pantin". Facultad de Ciencias de la Salud.
Universidad de Carabobo. Valencia. Estado Carabobo. Venezuela.

RESUMEN. El embarazo en la adolescencia conlleva a riesgos de tipo nutricional, ya que a la demanda de nutrientes para el crecimiento materno se suman a las necesidades del embarazo. Este estudio tuvo como propósito evaluar el estado de folato, vitamina B₁₂ y de hierro en adolescentes embarazadas durante el primer trimestre del embarazo. Es una investigación transversal, descriptiva en 122 adolescentes embarazadas de Valencia, Estado Carabobo, 1997. Se determinaron los niveles de folato sérico, eritrocitario y de vitamina B₁₂ sérica por radioensayo; ferritina sérica por enzimoimmunoanálisis; hemoglobina mediante método semi-automatizado. Se calculó promedios, desviación estándar y frecuencias. Para folato se encontró un 1,7% con balance negativo y 19,0% marginal, para folato eritrocitario un 5,8% de deficiencia y 1,7% marginal; vitamina B₁₂ un 8,3% de deficiencia y 13,2% marginal, y un 19,0% de prevalencia de deficiencia de hierro. La prevalencia de anemia fue de 13,1%, siendo la deficiencia de hierro la principal causa. Existió una situación de riesgo nutricional respecto al hierro, a pesar de que su consumo excedió las recomendaciones, pero solo una pequeña proporción fue altamente biodisponible. Se concluye que la prevalencia de anemia fue inferior a la reportada en otros estudios. La prevalencia de deficiencia de hierro fue superior a la de folato y vitamina B₁₂. Las adolescentes embarazadas estudiadas se encontraron en riesgo biológico y nutricional para los nutrientes evaluados.

Palabras clave: Adolescente embarazada, folato, vitamina B₁₂, hierro, ferritina, anemia, deficiencia de micronutrientes, consumo dietario.

SUMMARY. Folate, vitamin B₁₂ and iron nutritional status in pregnant adolescents. Pregnancy in adolescence increases nutritional risk, due to higher demand of nutrients for maternal and fetal growth. This study was aimed to evaluate folate, vitamin B₁₂ and iron status of pregnant adolescents at first trimester of pregnancy. A cross sectional, descriptive study was performed in 122 pregnant adolescents from Valencia, Carabobo state, 1997. Serum and erythrocyte folate and serum vitamin B₁₂ was determined by radioassay; serum ferritin by enzimoimmunoassay; hemoglobin were performed by semi-automated method. Statistical analysis included standard deviation and frequencies. For serum folate 1.7% was found in negative balance and 19.0% at marginal status. For erythrocyte folate, 5.8% was deficient and 1.7% marginal. For serum vitamin B₁₂, 8.3% was deficient and 13.2% marginal. Iron deficiency was found in 19.0% of the adolescents. Prevalence of anemia was of 13.1%, being iron deficiency the main cause. There was high nutritional risk regarding iron status, although iron intakes exceeded the recommendations, but only a small proportion was bioavailable. Prevalence of anemia was lower than reported by other studies and iron deficiency was higher than folic acid and vitamin B₁₂ deficiencies. Pregnant adolescents are at a high biological and nutritional risk.

Key words: Pregnant adolescent, folate, vitamin B₁₂, iron, ferritin, anemia, micronutrient deficiencies, intakes.

INTRODUCCION

Durante la adolescencia se experimenta un aumento acelerado de la masa muscular, del volumen sanguíneo, del tejido esquelético y rápidas divisiones celulares debido al crecimiento, lo que genera un incremento en los requerimientos para todos los nutrientes, especialmente de ácido fólico, vitamina B₁₂ y hierro (1). En caso de un embarazo, el riesgo de desarrollar deficiencias se incrementa al sumarse las necesidades para el crecimiento fetal; aumentándose de esa manera el riesgo de complicaciones durante el embarazo (2).

En Venezuela, un 23% de los embarazos pertenecen a adolescentes (3); conformando un grupo de alto riesgo obstétrico, ya que su estructura corpórea no está preparada para la gestación y el parto, conduciendo a la aparición de parto prematuro, malformaciones congénitas, bajo peso al nacer, desnutrición y anemia (4). Como consecuencia de esta realidad, el embarazo en la adolescencia constituye un problema de salud pública (1), cuyo abordaje resulta complejo por los factores que intervienen en su ocurrencia: condiciones de vida, la comunidad, el entorno familiar; los cuales son determinantes de la conducta que ejercen los adolescentes respecto al inicio temprano de la sexualidad.

La deficiencia de folato y vitamina B₁₂ causan defectos del tubo neural, tales como: espina bífida y anencefalia, debido a que falla el crecimiento y replicación celular en el feto y la placenta (5). La deficiencia de hierro aumenta el porcentaje de partos prematuros, de niños de bajo peso al nacer, de la mortalidad perinatal y de la mortalidad infantil (6,7).

En Venezuela, no existen información sobre deficiencia de nutrientes esenciales para la hematopoyesis en adolescentes embarazadas. Por lo tanto, el presente trabajo tuvo como objetivo evaluar el estado de folato, vitamina B₁₂ y de hierro en adolescentes embarazadas durante el primer trimestre de embarazo.

METODOLOGIA

El tipo de investigación fue descriptiva, de corte transversal. La población estuvo constituida por el 100% de las embarazadas adolescentes que acudieron a su primer control prenatal (n:159), en la Maternidad del Sur "Dr. Armando Arcay", Fundación Instituto Carabobeño para la Salud (INSALUD), en la ciudad de Valencia. Estado Carabobo, Venezuela, en el año 1997. Con la finalidad de conocer el estado basal de los nutrientes a estudiar, se excluyeron 37 adolescentes embarazadas que cumplían con uno o más de los siguientes criterios: recibieran suplementos vitamínicos y minerales previos al control prenatal, presentaran alguna patología, ingirieran bebidas alcohólicas, usaran drogas o medicamentos que interfirieran en el metabolismo del folato.

La muestra quedó formada por 122 adolescentes embarazadas, con edad menor o igual a 18 años; aparentemente sanas, primigestas o multíparas, con edad gestacional menor de 14 semanas.

Para la realización de este estudio se obtuvo la aprobación del Comité de Ética de la Maternidad. Las embarazadas fueron informadas sobre los objetivos del estudio, así como los beneficios para ellas y sus hijos; y se obtuvo el consentimiento por escrito. Se les realizó:

1. Evaluación socioeconómica, mediante el método Graffar Modificado para Venezuela por Méndez Castellano (8).

2. Evaluación hematológica, para la cual se determinó hemoglobina, hematocrito, conteo eritrocitario, mediante un contador hematológico semi-automatizado y con estas variables se calcularon los Índices Hematimétricos: Concentración de Hemoglobina Corpuscular Media (CHCM) y el Volumen Corpuscular Medio (VCM).

3. Evaluación bioquímica, mediante la determinación de los niveles séricos y eritrocitario de folato y niveles séricos de vitamina B₁₂ mediante ensayo radiométrico con los kits comerciales "Solid Phase No Boil Assay" para ácido fólico

y vitamina B₁₂ respectivamente, de Diagnostic Products Corporation, DPC. Se determinó ferritina sérica como indicador de deficiencia de hierro, usando un método inmunoenzimático comercial (Sorin Biomédica). Para las determinaciones hematológicas y bioquímicas, se tomaron en condiciones de ayuno, 10 ml de sangre periférica mediante punción venosa.

4. Evaluación dietaria, mediante dos Recordatorios de 24 horas (9) no consecutivos, coincidiendo uno de ellos con la extracción de sangre. Los datos se analizaron en el programa "Food Processor II" (10), el cual tiene incorporado la Tabla de Composición de Alimentos Venezolana (11). La adecuación del consumo se determinó sobre la base de las necesidades durante el primer trimestre de embarazo, comparándolas con las recomendaciones americanas (12), dado que no existe mayor diferencia entre éstas (15 mg/día) y recomendaciones las venezolanas (14 mg/día) (13).

Se usó como punto de corte para definir "anemia" en el primer trimestre de gestación, valores de hemoglobina por debajo de 11 g/dl (6,14). Para los índices hematimétricos, se consideró hipocromía valores de CHCM inferior de 32%; microcitosis un VCM inferior a 80 fL y macrocitosis un VCM superior a 94 fL (6,15).

Los niveles de folato se determinaron tanto en suero como en eritrocitos. El nivel sérico se usó como indicador de "balance negativo", ya que sus niveles se modifican en respuesta a cambios recientes en el consumo o cambios temporales en el metabolismo; aún cuando las reservas tisulares de esta vitamina permanecen estables. El nivel eritrocitario se usó como indicador de deficiencia, ya que este indicador sí provee información acerca de las reservas corporales (16). Se establecieron los siguientes puntos de corte: para folato sérico, cifras por debajo de 3.0 ng/ml como "balance negativo", "marginal" entre 3.0 y 6.0 ng/ml y "aceptable" mayor de 6.0 ng/ml. Para folato eritrocitario, se consideró como "deficiencia" cifras menores de 140 ng/ml, "marginal" de 140 a 160 ng/ml, y "aceptable" mayor de 160 ng/ml (17).

Para deficiencia de vitamina B₁₂ se consideraron valores menores de 150 pg/ml, "marginal" de 150 a 200 y "aceptable" mayor de 200 pg/ml (17). Se estableció como punto de corte para deficiencia de hierro, valores de ferritina sérica inferior a 12 µg/L, los cuales indican depleción de las reservas corporales de hierro (6,14).

5. Análisis estadísticos: se aplicaron estadísticos descriptivos, distribución de frecuencia, chi-cuadrado, y prueba "t" (18).

RESULTADOS

Según el método de Graffar, el 66,4% de las adolescentes embarazadas evaluadas pertenecían al estrato IV (pobreza

relativa) y un 27,9% al estrato V (pobreza crítica); lo que corresponde al área socioeconómica de influencia de la Maternidad donde se realizó el estudio. En la Tabla 1 se muestran las características de la población evaluada según grupo de edad, observándose que las embarazadas tenían edades entre 13 y 18 años con una media de $16,5 \pm 1,1$ años, de las cuales 18% eran menores de 15 años de edad. La edad ginecológica promedio fue de $4,1 \pm 1,5$ años; y un 30,8% de las embarazadas se ubicaron por debajo del punto de corte para riesgo ginecológico (menos de 4 años).

TABLA 1
Características de la población estudiada

	Grupo de edad		
	13-15 años (n: 22)	15-18 años (n: 100)	Total (n: 122)
Edad			
X± DE	14,5±0,6	16,9±0,7	16,5±1,1
(%)	18	82	100
Edad ginecológica			
X± DE	2,9±1,1	4,3±1,4	4,1±1,5
< 4 años (%)	43,2 (n:16)	56,8 (n:21)	30,8 (n:37)
> 4 años (%)	7,2 (n:6)	92,8 (n:77)	69,2 (n:83)
Paridad			
Primíparas (%)	27,5 (n:22)	72,5 (n:58)	66,0 (n:80)
Múltiparas (%)	—	100 (n:42)	34 (n:42)

La Tabla 2 muestra los valores promedios y la proporción de adolescentes embarazadas con deficiencia de folato, vitamina B₁₂ y hierro.

TABLA 2
Valores promedios y proporción de adolescentes embarazadas con deficiencia de folato, vitamina B₁₂ y hierro

VARIABLES	X±DE	Deficiente (%)	Marginal (%)
Folato sérico ¹	11,4±6,9	1,7	19,0
Folato eritrocitario ²	381,4±183,2	5,8	1,7
Vitamina B ₁₂ sérica ³	314,2±154,7	8,3	13,2
Ferritina sérica ⁴	35,1±26,1	19,0	—

1. Deficiente < 3, Marginal 3 – 6 (ng/ml)
2. Deficiente < 140, Marginal 140 – 160 (ng/ml)
3. Deficiente < 150, Marginal 150 – 200 (pg/ml)
4. Deficiente < 12 (µg/L).

El valor promedio para hemoglobina fue de $12,0 \pm 1,1$ g/dl; con una prevalencia de anemia de 13,1%. Al considerar la

etiología de la anemia (Tabla 3), se encontró que la mayor prevalencia (56,2%) era por anemia por deficiencia de hierro; mientras que un 6,3% y un 12,5% fueron por deficiencia de folato y vitamina B₁₂ respectivamente; y un 25% de anemia debido a otras causas. Al clasificar la anemia según índices hematimétricos, se obtiene que un 56,3% eran de tipo hipocrómicas, el 37,5% microcítica y solo un 6,3% eran de tipo macrocítica.

TABLA 3
Prevalencia de anemia según deficiencia de folato, vitamina B₁₂ y hierro

	N	%
Anemia ¹	16	13,1
Anemia por deficiencia de hierro ²	9	56,2
Anemia por deficiencia de folato ³	1	6,3
Anemia por deficiencia de vitamina B ₁₂ ⁴	2	12,5
Anemia por otras causas	4	25

1. Total de anémicas: Hb < 11 g/dl.
2. Anemia por deficiencia de hierro: Hb < 11 g/dl y ferritina sérica < 12 µg/L
3. Anemia por deficiencia de folato: Hb < 11 g/dl y folato eritrocitario < 140 ng/ml
4. Anemia por deficiencia de vitamina B₁₂: Hb < 11 g/dl y vitamina B₁₂ sérica < 150 pg/ml

La Tabla 4 presenta los resultados del consumo dietario; observándose que el consumo promedio fue de $93,2 \pm 61,8$ y $3,1 \pm 2,2$ µg/día para folato y vitamina B₁₂ respectivamente y para hierro fue de $15,9 \pm 5,9$ mg/día. Los porcentajes de adecuación con base en las recomendaciones americanas para el primer trimestre fueron 23,2%, 103,7% y 106,2% para folato, vitamina B₁₂ y hierro respectivamente. Es importante resaltar que del consumo total de hierro, $3,1 \pm 3,1$ mg/día (19,6%) provenía de fuentes de hierro hemínico y $12,8 \pm 4,7$ mg/día (80,4%) de fuentes de hierro no hemínico.

TABLA 4
Consumo y adecuación dietaria promedio de folato, vitamina B₁₂ y hierro en las adolescentes embarazadas estudiadas según recomendaciones

Nutriente	Consumo X± DE	Adecuación (%) X ± DE
Folato (µg/día)	93,2 ± 61,8	23,2 ± 15,5
Vitamina B ₁₂ (µg/día)	3,1 ± 2,2	103,7 ± 76,2
Hierro (mg/día)	15,9 ± 5,9	106,2 ± 40,0
Hemínico	3,1 ± 3,1	
No Hemínico	12,8 ± 4,7	

DISCUSION

El embarazo en la adolescencia constituye un problema de salud pública a nivel mundial. En Venezuela, según cifras de la OCEI (3) aproximadamente el 23% de los nacimientos provienen de madres adolescentes; y en el estado Carabobo, corresponde a 21,3% de la población total del estado (4). En este estudio, solo un 18% de las embarazadas eran menores de 15 años de edad, lo que representa una situación un tanto favorecedora desde el punto de vista de Salud Pública, ya que son éstas quienes enfrentan mayores complicaciones tales como anemia, parto prematuro, bajo peso al nacer, malformaciones congénitas; así como también la posibilidad de muerte debido a complicaciones del embarazo (4). Este hallazgo difiere de otros reportados en Venezuela, en el cual encontraron que entre 28,0% y 29,1% de las adolescentes embarazadas evaluadas eran menores de 16 años de edad (19,20).

A pesar de que la edad ginecológica promedio fue superior a los 4 años, es importante resaltar que el 30,8% se ubicó por debajo de ese punto de corte; indicando riesgo obstétrico, ya que la gestante no ha completado su desarrollo morfológico, poniendo en peligro su salud y la de su hijo (21). Adicionalmente a esto, el 94,3% de las embarazadas estudiadas pertenecían a los estratos sociales más desfavorecidos de la población; lo cual muestra que el embarazo en la adolescencia es un fenómeno íntimamente ligado a la pobreza. De manera que, si se toman en cuenta las condiciones económicas desfavorables en las que generalmente habitan estas adolescentes, la escasa instrucción, las malas condiciones de salubridad y la pobre alimentación, se comprueba que el embarazo en la adolescencia mas que un problema médico constituye un problema social.

El folato sérico de las adolescentes embarazadas estuvo dentro del rango normal, similar a lo reportado por otros autores, quienes han referido cifras en el orden de 10,1 y 11,0 ng/ml (22-24), mientras que la prevalencia de "balance negativo" (1,7%) fue inferior a la reportada por Bailey y colaboradores (15,0%) en embarazadas adolescentes (2). La prevalencia de gestantes con niveles marginales de folato sérico (19,0%) fue inferior a la reportada por otros autores (48% y 59,7%) (2,25).

Los valores promedios de folato eritrocitario se ubicaron en el rango aceptable, siendo superiores a los reportados por otros autores quienes obtuvieron valores promedios entre 226-287 ng/ml (2,23,24). Tanto la prevalencia de deficiencia, como de niveles marginales fueron inferiores a otros estudios que reportaron desde un 8,6% hasta un 22,0% (23,24,26) y de 11% y 12,6% respectivamente (2,24). Esto pudiera explicarse si se considera que en algunos de los trabajos referidos existía una proporción de embarazadas que utilizaba

anticonceptivos orales previo al embarazo, y algunas de ellas con edad gestacional superior a las 14 semanas, en el que los niveles séricos y eritrocitarios de folato declinan a causa de una mayor utilización (16).

El hallazgo de un 19,0% con niveles marginales de folato sérico las ubica en situación de riesgo desde el punto de vista nutricional; ya que durante la gestación el estado marginal de folato puede alterar el crecimiento y replicación celular en el feto y/o placenta, incrementando el riesgo de abortos espontáneos, partos pretérminos o retardo del crecimiento intrauterino (5,14). Adicionalmente, se debe considerar que los niveles séricos de folato disminuyen rápidamente a causa de una inadecuación dietaria por corto tiempo, no indicando esto una depleción de las reservas corporales de esta vitamina (16,17); de manera que este hallazgo pudiera sugerir un deterioro en el consumo de folato por parte de las embarazadas evaluadas, lo cual coincide con la historia dietaria de las participantes.

De igual modo, la deficiencia de folato en los primeros 28 días de gestación puede contribuir a la alteración en el cierre de la placa neural del embrión (27); trayendo como consecuencia la aparición de defectos del tubo neural (2,5,14,16). El hecho de tratarse de gestantes adolescentes impone un riesgo adicional, ya que se tendría a dos individuos creciendo (2).

En este estudio, el nivel promedio para vitamina B₁₂ sérica estuvo dentro de lo normal; siendo los valores superiores a otros estudios que reportan cifras entre 245 y 291 pg/ml (23,24). Sin embargo existió un 8,3% de las embarazadas deficientes en vitamina B₁₂, prevalencia inferior a la reportada por Black y colaboradores (15%), quienes realizaron el estudio en una comunidad mexicana, donde existía una alta prevalencia de parasitosis intestinales y de gastritis, causantes de malabsorción intestinal (22). En el presente trabajo no se evaluó la presencia de parasitosis intestinal, la cual es causante de deficiencia de vitamina B₁₂ (28). Adicionalmente la presencia de un 13,2% con niveles marginales es relevante teniendo en cuenta que durante las primeras semanas de embarazo se pueden presentar trastornos gastrointestinales tipo acidez, náuseas y vómitos que producen gastritis, causando malabsorción de la vitamina B₁₂ y consecuentemente la disminución de los niveles circulantes.

Es importante resaltar que la prevalencia de deficiencia de vitamina B₁₂ fue superior que la de folato, pudiendo ser debido a que las demandas de vitamina B₁₂ en las primeras 27 semanas de gestación son elevadas; en primer lugar a causa del aumento de la eritropoyesis materna y embrio-fetal y en segundo lugar para favorecer la absorción y utilización del folato, en el último trimestre del embarazo (29). A pesar de que la prevalencia de deficiencia de vitamina B₁₂ fue baja, su determinación se justifica, ya que ésta es requerida metabólicamente para generar la forma activa del folato y la

deficiencia de ambas no es distinguible clínicamente. (16,17)

Los niveles promedio de ferritina observados, indican depósitos de hierro adecuado. Sin embargo, un 19,0% de las adolescentes embarazadas tenían agotados los depósitos de hierro. Esta prevalencia de deficiencia de hierro fue menor comparada con la prevalencia observada por Hertrampf y colaboradores en embarazadas adolescentes chilenas al inicio de la gestación y por Fujimori y colaboradores en embarazadas adolescentes brasileras, quienes encontraron un 21% y 25% de deficiencia de hierro respectivamente (30,31); lo cual pudiera explicarse en virtud de que las embarazadas de este estudio tenían menos de catorce semanas de gestación y en los estudios mencionados algunas de ellas tenían una edad gestacional superior, en cuya etapa declinan significativamente los niveles circulantes de ferritina sérica, a causa de la expansión del volumen plasmático materno y a la mayor utilización de hierro para la eritropoyesis (7,32).

No obstante, hay que considerar que las necesidades de hierro durante el primer trimestre del embarazo son menores si se comparan con las del segundo y tercer trimestre. Esto se debe a la suspensión de la menstruación por el embarazo, el cual representa un ahorro de 0,56 mg/día de hierro, que puede elevar las reservas de este mineral (32). También, existen evidencias que la actividad eritropoyética se reduce durante las primeras semanas de gestación, con una ligera reducción en la masa celular roja, del número de reticulocitos y un aumento en la concentración de ferritina sérica. El aumento en los requerimientos se inicia para el segundo trimestre del embarazo y permanecen elevados a lo largo de éste, observándose mayores cambios hematológicos y una disminución de la ferritina circulante (32).

En este estudio, la prevalencia de anemia se ubicó en un 13,1%, el cual es considerado un problema leve desde el punto de vista de salud pública, según criterios de la OMS/UNICEF/UNU (33). La anemia corresponde a la última etapa en el desarrollo de deficiencia de los nutrientes esenciales para la hematopoyesis como lo son el hierro, el ácido fólico y la vitamina B₁₂. Dado que el grupo de adolescentes estaban en las primeras semanas de embarazo, no había transcurrido el tiempo necesario para que se depletaran totalmente las reservas de estos nutrientes y como en el primer trimestre de la gestación el efecto dilucional a causa de la expansión del volumen plasmático es mínimo, se podría así explicar la baja prevalencia de anemia (7).

Al considerar la etiología de la anemia se encontró que la mayor proporción fue debida a deficiencia de hierro (56,2%). Esto se evidenció al clasificar las anemias según índices hematimétricos, encontrándose 37,5% de tipo microcítica y 56,3% hipocrómica, ambas características de la anemia ferropénica.

En esta investigación, la mayor proporción correspondió a anemia de origen nutricional, siendo la deficiencia de hierro

el principal factor etiológico. Sin embargo, se pudo observar que del total de embarazadas anémicas, un 25% eran anémicas por otras causas. Entre ellas pudieran considerarse la deficiencia de vitamina A y/o procesos inflamatorios latentes los cuales se han reportado en otros estudios (34). En adición a la deficiencia de hierro, folato y vitamina B₁₂, la deficiencia de vitamina A es otra causa de anemia nutricional. Van Den en 2000 realizó un estudio con el objeto de determinar la etiología de la anemia en un grupo de embarazadas africanas, encontrando un 15% de deficiencia de vitamina A; siendo ésta la segunda causa de anemia después del hierro (34). Por lo tanto se debe evaluar el estado nutricional de esta vitamina, debido al importante papel que ejerce sobre el metabolismo del hierro, así como también en el mejoramiento de su absorción, previniendo el efecto inhibidor de los fitatos dietarios sobre la absorción de hierro (35).

Las enfermedades inflamatorias crónicas se encontraban entre los criterios de exclusión, sin embargo el instrumento usado para detectar su existencia fue sólo la evaluación clínica y no la determinación de alguna de las proteínas de fase aguda; cuya elevación son indicadores de inflamación (34). La existencia de un 25% de embarazadas con anemia de etiología desconocida, sugiere la necesidad de incorporar en la evaluación, la determinación bioquímica de vitamina A, así como también de un marcador bioquímico de inflamación.

En la muestra evaluada, tanto el consumo como la adecuación dietaria de folato fueron bastante críticas si se comparan con los requerimientos de este nutriente durante el embarazo (400 µg/día) (12). Las cifras fueron inferiores a las reportadas por otros autores quienes encontraron consumos entre 252 y 332 µg/día (23,36,37). A pesar de que el consumo de folato fue bajo, los niveles séricos y eritrocitarios, estuvieron dentro del rango normal. Esto se debe en gran parte a que el consumo dietario de folato es difícil de estimar, ya que las bases de datos de nutrientes carecen de información precisa y completa respecto a esta vitamina, subestimando el contenido de folato de los alimentos, lo cual sugiere que el consumo de folato pudiera ser mejor estimado empleando un método adicional como es la frecuencia de consumo de alimentos ricos en folato, ya que indicaría el patrón usual de consumo del nutriente (16).

El consumo de vitamina B₁₂ fue adecuado para prevenir su deficiencia. Esto coincide con los datos de otros autores, quienes reportan consumos por encima de las recomendaciones para vitamina B₁₂ (22,36). La posible explicación respecto a la prevalencia de deficiencia observada (9,1%), pudiera ser debida, en primer lugar al alto contenido de fibras y polifenoles presentes en la dieta venezolana, las cuales interfieren con la absorción de nutrientes (22,28). En segundo lugar, a la presencia de trastornos intestinales

causantes de malabsorción de la vitamina, aspecto éste que no fue evaluado en este estudio (22).

El consumo de hierro estuvo ajustado en cantidad a las recomendaciones internacionales y fue mayor que las recomendaciones para la población venezolana (12,13). A pesar de ello se observó un 19,5% de deficiencia. Esto se debe a que en este estudio el mayor aporte de hierro dietario lo representó la forma no hemínica (80,4%), la cual tiene baja biodisponibilidad y como consecuencia aumenta el riesgo de deficiencia. Esto también se observó en otros estudios donde el consumo y adecuación dietaria reflejaron resultados satisfactorios, pero a expensas de un hierro de baja biodisponibilidad (21,22). Aparte de la forma química del hierro en los alimentos, se debe tener en cuenta que en la mayoría de los países en vías de desarrollo, la dieta tiene un alto contenido de inhibidores de la absorción de hierro tales como: los fitatos, los taninos, el calcio, la fibra y es más baja en aquellos elementos que elevan la absorción de ese mineral como el ácido ascórbico y péptidos de la carne (22,35,38). Se debe considerar que en este estudio hubo un elevado consumo de café (71,3%), del cual es ampliamente reconocido su potente efecto inhibidor de la absorción del hierro no hemínico, debido a su alto contenido de tanatos (35).

Se concluye que las prevalencias de deficiencia de hierro fue superior a la de vitamina B₁₂ y folato. La prevalencia de anemia fue inferior a la mayoría de los estudios revisados, siendo la deficiencia de hierro la principal causa de ésta. El consumo de folato estuvo por debajo de las recomendaciones para la mujer embarazada y pesar de ello, los niveles séricos y eritrocitarios estaban dentro de los límites normales.

El consumo de hierro y vitamina B₁₂ estuvo ajustado a las recomendaciones; sin embargo, las embarazadas estudiadas presentan un alto riesgo nutricional respecto al hierro, ya que a pesar de que su consumo excedió las recomendaciones, solo una pequeña proporción fue altamente biodisponible.

Se recomienda la valoración nutricional mediante indicadores hematológicos y bioquímicos, desde el inicio del embarazo con la finalidad de detectar y/o prevenir deficiencias subclínicas de los nutrientes esenciales para la hematopoyesis, los cuales son fundamentales para la salud del binomio madre-hijo; especialmente en las adolescentes, pues el embarazo ocasiona un riesgo adicional, ya que el crecimiento materno impone necesidades que se suman a las propias del embarazo.

Financiado por: CDCH-UC. Universidad de Carabobo, N° 98-009

REFERENCIAS

1. Uzcátegui O. El embarazo en la adolescente precoz. *Rev Panam Salud Publica* 1998;3(4):262-3.
2. Bailey LB, Mahan CS. Folic acid and iron status in low-income pregnant adolescent and mature women. *Am J Clin Nutr* 1980; 33: 1997-2001.
3. Oficina Central de Estadística e Informática. OCEI. Anuario Estadístico de Venezuela 1994. República de Venezuela. Presidencia de la República, 1995.
4. López-Gómez JR, Bracho C. Salud del adolescente. El embarazo en la adolescente. Publicado por: Universidad de Carabobo, 1997.
5. Scholl TO and Johnson W. Folic acid: influence on the outcome of pregnancy. *Am J Clin Nutr* 2000;71(suppl):1295S-303S.
6. Scholl TO, Hediger ML, Fischer RL, Shearer JW. Anemia vs iron deficiency: Increased risk of preterm delivery in a prospective study. *Am J Clin Nutr* 1992; 57:135-39.
7. Allen L H. Anemia and iron deficiency: effects on pregnancy outcome. *Am J Clin Nutr* 2000; 71(suppl): 1280S-4S.
8. Méndez-Castellano HM, Méndez MC. Sociedad y Estratificación. Método Graffar-Méndez Castellano, 1994:7-35.
9. Gibson R. The twenty-four-hour recall. Chapter 1. In: Nutritional Assessment Laboratory Manual. New York. Oxford University Press, 1993:5-7.
10. Hands ES. The Food Processor II. Diet Analysis Software. Segunda Edición. ESHA Research, 1990.
11. Ministerio de Sanidad y Asistencia Social. Instituto Nacional de Nutrición. Dirección Técnica: División de Investigación en Alimentos. Tabla de composición de alimentos para uso práctico. Revisión 1999. Publicación N° 52. Serie de Cuadernos Azules. Caracas-Venezuela; 1999.
12. National Research Council. Recommended Dietary Allowances. 10th Edition. National Academy Press. Washington D.C, 1989.
13. Instituto Nacional de Nutrición. Fundación Cavendes. Necesidades de energía y nutrientes. Recomendaciones para la población venezolana. Publicación N° 48. Serie de Cuadernos Azules, 1993.
14. Institute of Medicine. Status during pregnancy and lactation. Nutrition during pregnancy. Washington D.C. National Academy Press, 1990.
15. Balcells A. La clínica y el laboratorio. Interpretación de análisis y pruebas funcionales. Editorial Masson-Salvat. 15ª Edición, 1992:189-94.
16. Bailey LB. The role of folate in human nutrition. *Nutr Today* 1990;25(4):12-9.
17. Gibson R. Assessment of the status of folate and vitamin B₁₂. Chapter 22, In: Principles of Nutritional Assessment. New York. Oxford University Press, 1990:461-83.
18. Hernández R, Fernández C, Baptista P. Análisis de los Datos. Cap 10. En: Metodología de la Investigación. Segunda Edición. Editorial McGraw-Hill, 1998:341-426.
19. Teppa A, Szczedrin V, González M, Reyes V. Adolescentes: anticoncepción y experiencia sexual. *Rev Obstet Ginecol Venez* 1996; 56(4):215-19.

20. Malavé M, De Oliveira C, López T. Características clínicas, sociales y epidemiológicas del embarazo en adolescentes precoz y tardías. *Acta Cient Venez* 1998; 49 (suplem 2):264.
21. Rebolledo A, Atalah E. Nutritional risk in pregnant adolescent. *Rev Chil Nutr* 1986; 14(3):193-99.
22. Black A, Allen LH, Peltz GH, Mata P, Chavez A. Iron, vitamin B₁₂ and folate status in Mexico: Associated factors in men and women and during pregnancy and lactation. *J Nutr* 1994; 121:1179-88.
23. Trugo N, Donangelo CM, Henríquez C. Folate and iron status of non-anemic women during pregnancy: Effect of routine folate and iron supplementation and relation of erythrocyte folate with iron stores. *Nutr Res* 1996; 16(8):1267-76.
24. House JD, March SB, Ratman S, Ives E, Brosnan JT, Friel JK. Folate and vitamin B₁₂ status of women in Newfoundland at their first prenatal visit. *Can Med Assoc J* 2000; 162(11):1557-9.
25. Ackurt, F; Wetherilt; Loker, M; Hacibekiroglu, M. Biochemical assessment of nutritional status in pre- and post-natal Turkish women and outcome of pregnancy. *Eur J Clin Nutr* 1995; 49(8):6313-22.
26. Gadowsky S, Gale K, Wolfe S, Jory J, Gibson R, O'Connor D. Biochemical folate, B₁₂, and iron status of a group of pregnant adolescent accessed through the public health system in Southern Ontario. *J Adolesc Health* 1995;16(6):465-74.
27. Scott JM. La importancia del ácido fólico. En: *Dieta y salud. Organ informativo de la Kellogg's*, 1996; 5(1):1-7.
28. Allen, L.H; Rosado, J; Casterline, JE; Martinez, H; Lopez, P; Muñoz, E and Black, AK (1995). Vitamin B₁₂ deficiency and malabsorption are highly prevalent in rural Mexican communities. *Am J Clin Nutr* 1995; 62:1013-19.
29. Carretti N, Eremita GA, Porcelli B, Paternóster D, Grella P. Pattern of vitamin B₁₂ and folic acid during pregnancy. *Gynecol Obstet Invest* 1991; 38(2): 78-81.
30. Hertrampf E, Olivares M, Letelier A, Castillo C. Situación de la nutrición de hierro en la embarazada adolescente al inicio de la gestación. *Rev Med Chile* 1994; 122(12): 1372-7.
31. Fujimori E, Oliveira IM, Cassana LM, Szarfarc SC. Estado nutricional del hierro de gestantes adolescentes, São Paulo, Brasil. *Arch Latinoam Nutr* 1999; 49(1):8-12.
32. Bothwell T. Iron requirements in pregnancy and strategies to meet them. *Am J Clin Nutr* 2000; 72(suppl): 257S-64S.
33. World Health Organization (WHO). Iron deficiency anaemia assessment, prevention, and control. A guide for programme managers. Report of WHO/UNICEF/UNU. Document WHO/NHD/01.3, 2001.
34. Van Den Broek NK and Letsky EA. Etiology of anemia in pregnancy in south Malawi. *Am J Clin Nutr* 2000; 72(suppl):247S-56S.
35. García-Casal MN, Layrisse M. Absorción del hierro de los alimentos. Papel de la vitamina A. *Arch Latinoam Nutr* 1998; 48(3):191-96.
36. Mikode M, White A. Dietary assessment of middle-income pregnancy women during the first, second, and third trimesters. *J Am Diet Assoc* 1994; 94(2):196-99.
37. Scholl TO, Hediger ML, Schal C, Khoo CS. Dietary and serum folate: Their influence on the outcome of pregnancy. *Am J Clin Nutr* 1996; 63:520-25.
38. Layrisse M, García-Casal MN, Solano L, Barón MA, Arguello F, Llovera D et al. Vitamin A reduces the inhibition of iron absorption by phytates and polyphenols. *Food Nutr Bull* 1998; 19(1):3-5.

Recibido: 25-02-2002

Aceptado: 24-04-2003

Perfil de aminoácidos plasmáticos en adolescentes saludables embarazadas de Maracaibo, Venezuela

Pablo Ortega, Haydée V. Castejón, María G. Argotte, Gisela Gómez, Lissette Bohorquez, Jesús R. Urrieta.

Laboratorio de Investigación en Desnutrición Infantil. Instituto de Investigaciones Biológicas.
Facultad de Medicina. Universidad del Zulia. Maracaibo, Venezuela

RESUMEN. Se estudiaron por clínica y antropometría 100 jóvenes adolescentes de 13 a 18 años, (no embarazadas, n=52; y embarazadas, n=48) de Maracaibo - Venezuela, para seleccionar solo aquellas saludables, con estado nutricional adecuado, y analizar sus concentraciones plasmáticas de aminoácidos. La mayoría de las adolescentes pertenecían a familias del estrato socio-económico IV (clase trabajadora). Se evaluó la edad, peso, talla, índice de masa corporal y circunferencia de la parte medial del brazo, para finalmente escoger 41 adolescentes no gestantes (control) y 42 gestantes, con nutrición adecuada, a quienes se les extrajo sangre venosa periférica para el análisis de los aminoácidos plasmáticos. Dicho análisis se realizó por HPLC. La concentración promedio se expresó en $\mu\text{mol/L} \pm \text{ES}$. Se aplicó el programa SAS/STAT para análisis estadístico. Los valores de aminoácidos plasmáticos de las adolescentes control se encontraron dentro de los rangos reportados por otros investigadores, aunque con ligera variación hacia la disminución, probablemente por características nutricionales, metabólicas o genéticas propias de una población tropical. En las adolescentes gestantes saludables, distribuidas de acuerdo a su edad gestacional en: < 32 sem (n=30) y > 32 sem (n=12), se observó disminución del total molar de aminoácidos, al compararlos con el control. Diez aminoácidos (Pro, Gly, Gln, Arg, Ser, Orn, Tau, Leu, Thr y Val) aparecieron significativamente disminuidos a lo largo del embarazo, siendo la Gly, Gln y Arg los más afectados desde las semanas tempranas. Durante el 2do período, la Thr y Val aumentaron su porcentaje de afectación; mientras que otros aminoácidos (Orn, Pro y Tau) tendieron hacia una recuperación casi total. Varios de los aminoácidos afectados son neoglucogénicos, probablemente utilizados para suplir la energía requerida por la adolescente gestante ante un doble estrés: el desarrollo del feto y su propio desarrollo. Los valores de aminoácidos plasmáticos reportados, tanto en adolescentes control como en las gestantes, pudieran ser tomados como patrón de referencia regional en este grupo poblacional, para futuras investigaciones en malnutrición de adolescentes y materno - fetal.

Palabras clave: Aminoácidos plasmáticos, adolescentes femeninas, nutrición adecuada, embarazo, Venezuela.

INTRODUCCION

La adolescencia es el período de la vida que comienza con la aparición de las características sexuales secundarias y

SUMMARY. Plasma amino acids profile of healthy pregnant adolescent girls in Maracaibo, Venezuela. One hundred female adolescents (13 – 18y) were clinical and anthropometrically studied to select only those with adequate nutrition. Most adolescents belonged to IV socio-economic stratum families (worker class). Height, weight, age, body mass index and medial arm circumference were used as anthropometric parameters. After screening, only 41 non pregnant girls (control) and 42 pregnant girls with adequate nutrition were selected to analyze plasma amino acids. Fasting peripheral venous blood was drawn, and plasma amino acids were analyzed by HPLC. Amino acid concentrations were expressed as $\mu\text{mol/L} \pm \text{SE}$. SAS/STAT program was used for statistical analysis. Amino acid values of control adolescent group were found in ranges reported by other investigators, with slight variations, mostly in diminution, presumably due to nutritional, metabolic or genetic conditions of people living in tropical regions. In pregnant healthy adolescents, distributed according to gestational age: < 32 weeks (n=30) and > 32 weeks (n=12), a diminution of total molar plasma amino acids was found, by comparing with control values. Ten amino acids (Pro, Gly, Gln, Arg, Ser, Orn, Tau, Leu, Thr and Val) appeared significantly diminished throughout gestation, being Gly, Gln and Arg most affected since earlier weeks. During the 2nd period, Thr and Val increased their grade of affectation; whereas some amino acids values (Orn, Pro and Tau) tended to recuperate. Several of affected amino acids are gluconeogenic, thus, they could be utilized to supply the energy required by the pregnant adolescent against her double stress: the fetus development and her own development. The plasma amino acid values reported in both, healthy non pregnant and pregnant adolescents, could be taken as regional referential profile of plasma amino acids in this poblational group for further research on adolescent and fetal – maternal malnutrition.

Key words: Plasma amino acids, female adolescents, adequate nutrition, pregnancy, Venezuela.

termina con el cese del crecimiento somático (1-3). La velocidad de aumento de estatura y de peso guardan entre si una relación de influencia recíproca y aportan del 15% al 20% de la estatura y 50% del peso final del adulto (2); de

allí, que los requerimientos nutricionales sean altos en este período, especialmente en las adolescentes embarazadas (3). La nutrición en la mujer embarazada es el factor ambiental de mayor influencia en el feto (4), jugando un papel importante en la maduración y desarrollo funcional del SNC. La malnutrición pre-natal origina niños con bajo peso al nacer, asociado a deficiencias neuromotoras y del comportamiento permanentes (5-9), incluyendo una mayor incidencia de desórdenes psiquiátricos en el adulto, siendo los déficits de comportamiento, mayores que el déficit intelectual (10).

Durante la vida fetal, la placenta es la responsable de transferir los nutrientes al feto (11-13). Este proceso es regulado por mecanismos que son específicos para cada grupo de nutriente (14,15). Existen varios mecanismos que influyen en el desarrollo de una inadecuada nutrición fetal; entre éstos, la malnutrición materna es la predominante, al no suplir al embrión o feto con los nutrientes suficientes para su formación y desarrollo. La malnutrición protéica pre-natal es la condición que afecta mayormente el desarrollo cerebral, ya que las proteínas juegan un papel necesario en la maduración y desarrollo funcional del SNC, no solo en los periodos de rápido crecimiento, sino también a lo largo de los procesos de organización como la neurogénesis, migración celular y diferenciación. La deprivación protéica pre-natal es causante de varios síndromes de disfunción cerebral mínima, de trastornos en los procesos de atención e interacción con el ambiente circundante, culminando con problemas de aprendizaje y conducta (9).

Los aminoácidos son la fuente primaria de proteínas en el feto. Se ha demostrado que la placenta es capaz de concentrar la mayoría de los aminoácidos para asegurar su transporte en contra de un gradiente de concentración (16). Se ha reportado también, correlación de concentraciones plasmáticas de algunos aminoácidos maternos con algunos indicadores de crecimiento fetal (4,13). De allí que, analizar en la madre el perfil de aminoácidos plasmáticos en las diferentes etapas de la gestación, nos podría dar indicios para conocer el estado nutricional del feto, en consecuencia, su desarrollo.

Por otro lado, Venezuela se encuentra entre los países con mayor índice de maternidad adolescente en América; cerca del 30% de los niños que nacen en el país son concebidos por jóvenes menores de 20 años. El riesgo de malnutrición pre-natal y de anemia es mucho mayor en este grupo poblacional (17).

El análisis de aminoácidos plasmáticos ha sido utilizado desde hace varias décadas para estudiar el tipo y severidad de la malnutrición protéica, (18-20). Haciendo revisión de la literatura, son pocas las investigaciones recientes realizadas para establecer un patrón de aminoácidos plasmáticos de una población adolescente sana (21-23). En Venezuela, dicho

patrón no se ha establecido. Sin embargo, se conoce que aun cuando las concentraciones de aminoácidos plasmáticos no son determinadas exclusivamente por la dieta, una muestra de individuos bien alimentados y libres de enfermedades, en una población definida, generará al promediar los valores, un perfil de aminoácidos que reflejará, no solo los hábitos dietarios de la población, sino también sus parámetros bioquímicos y hasta genéticos del metabolismo de sus aminoácidos. Tal perfil puede ser considerado como representativo de esa población local (20). Una vez establecido el patrón normal de aminoácidos, las desviaciones de tal patrón en grupos de individuos de esa población, podría proveernos información sobre su status metabólico y dietario. De allí que en la presente investigación, estableceremos el perfil aminoacídico plasmático de una muestra de adolescentes femeninas sanas, adecuadamente nutridas de la ciudad de Maracaibo - Venezuela, el cual serviría como patrón de comparación del perfil de aminoácidos de un grupo de adolescentes grávidas, también adecuadamente nutridas, y estudiar las variaciones que pueden sufrir las gestantes en cuanto a sus aminoácidos plasmáticos durante el proceso de gestación.

MATERIAL Y METODOS

En el presente estudio transversal controlado, se analizaron 100 adolescentes (13 a 18 años), de Maracaibo - Venezuela, evaluadas durante el segundo semestre del año 2000. Para incluir los sujetos en este estudio, se obtuvo previamente el consentimiento escrito de las adolescentes, o sus representantes legales, estableciéndose dos grupos: **Adolescentes no gestantes**, constituido por 52 jóvenes, aparentemente saludables seleccionadas al azar durante sus actividades educativas, en una Unidad de Educación Secundaria de Maracaibo. **Adolescentes gestantes**, constituido por 48 adolescentes embarazadas, aparentemente saludables, asistentes a la Consulta pre-natal del Servicio de Gineco-obstetricia de un Hospital público de Maracaibo. La evaluación socio-económica según el método de Graffar, modificado y adaptado para Venezuela por Méndez Castellano y Méndez (24), permitió ubicar a las familias de las adolescentes, un 75% en la condición IV (clase trabajadora), 15% en la clase III y solo 10% en la clase marginal. La evaluación clínica de las adolescentes fue realizada por un médico general y un gineco-obstetra de acuerdo a un cuidadoso examen físico, para detectar signos sugestivos o indicativos de déficit nutricional o cualquier otra patología. La evaluación nutricional antropométrica fue realizada por una nutricionista - dietista, considerando las variables edad, peso, talla, índice de masa corporal (IMC) y la circunferencia de la parte medial del brazo (CMB). Del total de 100 adolescentes, se seleccionaron por su estado

nutricional adecuado, 41 no gestantes y 42 gestantes.

Para el análisis de los aminoácidos plasmáticos, la muestra de sangre se tomó por punción venosa periférica, teniendo en cuenta que hubiesen transcurrido por lo menos seis horas desde la última comida. La sangre fue colectada en tubos heparinizados y centrifugada a 2000g durante 10 minutos a 8°C. El plasma fue desproteínizado con ácido sulfosalicílico (30 g/L). Una vez desproteínizado, 50 uL del sobrenadante fue sometido a un proceso de evaporación al vacío; para luego ser derivatizada con fenil-isiotiocianato de acuerdo a la técnica de Sarwar y Botting (25,26). Concluida la derivatización se inyectó 20 uL de la muestra en un equipo de cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC) marca LKB, con columna de fase reversa Nova Pak^{C18}. La cuantificación de aminoácidos se hizo en un registrador Cromatopac CR5 Shimadzu, mediante el método del estándar externo; éste estuvo constituido por una mezcla de hidrolizado de proteínas (Pierce Chem Co. USA), con una concentración

de aminoácidos de 2.5 umol/mL en 0.1 N HCL; a excepción de L-Cys (1.25 umol/mL). Todos los reactivos utilizados fueron de calidad HPLC. Los resultados finales fueron expresados en umol/L. El análisis estadístico de los datos se realizó con la ayuda de los sistemas de análisis estadístico computarizado SAS/STAT versión 6.12 (SAS Inst. Inc, Cary, Nc, 1996). La comparación entre los grupos se efectuó aplicando la prueba de comparación múltiple de Dunnett, tomando el 95% como índice de confiabilidad estadística.

RESULTADOS

La Tabla 1 expresa las características antropométricas del grupo de adolescentes saludables no gestantes y las de las gestantes en los dos períodos de gestación. Nótese que los indicadores antropométricos de ambos grupos se encuentran en el rango de la normalidad.

TABLA 1
Características antropométricas de las adolescentes adecuadamente nutridas no gestantes (control), y gestantes de acuerdo al periodo de la gestación

	No gestantes (n=41)		Gestantes (n=42)			
	Control		≤ 32 Sem (n=30)		> 32 Sem (n=12)	
Edad (años)	15.2	(14.6 – 15.8)	16.4	(15.9 – 16.8)	16.6	(16.0 – 17.2)
Peso Act (kg)	53.4	(50.6 – 56.2)	58.4	(55.8 – 61.0)	67.3	(62.3 – 72.3)
Talla (cm)	155.0	(153.1 – 156.9)	156.1	(154.1 – 158.0)	157.7	(155.2 – 160.1)
CMB (cm)	24.3	(23.5 – 25.1)	23.5	(22.8 – 24.2)	25.3	(24.1 – 26.5)
IMC	22.1	(21.2 – 23.1)	21.7	(20.6 – 22.7)	22.7	(21.1 – 24.2)
Edad Gestac			24.4	(22.2 – 26.5)	36.0	(35.2 – 36.7)
Peso Pre (kg)			52.8	(50.3 – 55.3)	56.3	(52.8 – 59.8)
Gan Peso (kg)			5.6	(3.7 – 7.3)	11.0	(4.7 – 17.2)

Los valores en paréntesis corresponden a intervalos de confianza 95%
 Los índices antropométricos de las adolescentes gestantes fueron tomados de historia previa o al inicio del embarazo
 CMB = Circunferencia de la parte medial del brazo IMC = Índice de masa corporal (Peso kg/ Talla² mts)
 Edad Gestac = Edad gestacional Peso Pre = Peso previo al embarazo
 Peso Act = Peso actual al momento del estudio Gan Peso = Ganancia de peso

La Tabla 2 muestra el promedio de los valores de aminoácidos plasmáticos, con sus correspondientes intervalos de confianza, de la población de adolescentes no gestantes (Control) y gestantes en dos diferentes períodos de gestación (< y > 32 semanas de gestación). Los valores de Val, Thr, His, Ser, Gly, Gln, Pro y Arg aparecieron significativamente disminuidos a lo largo de la gestación. En el período < 32 sem (n=30), diez aminoácidos se muestran significativamente disminuidos. De acuerdo al grado de significancia, la Gly, Gln, Arg y Orn fueron los mas afectados, seguidos de Pro, Ser, Val y Tau. En el período > 32 semanas (n=12), la Arg

mantuvo su porcentaje de disminución; otros aminoácidos incrementaron su porcentaje de disminución (Gln, Ser, Thr, Leu, Val y Gly), mientras que la Tau, Orn y Pro recuperaron prácticamente los valores del grupo control.

La Tabla 3 muestra el porcentaje de disminución de los aminoácidos plasmáticos aparentemente afectados en las adolescentes gestantes, de acuerdo al período gestacional. Nótese que la Gly, Gln y Arg mantuvieron su descenso en todo el período gestacional; mientras que el resto de los aminoácidos afectados sufrieron variaciones, unos en alza y otros en baja, con respecto a su porcentaje de disminución.

TABLE 2
Valores de aminoácidos plasmáticos en adolescentes no gestantes (control), y gestantes de acuerdo al periodo de gestación

	No gestantes (n=41) Control	Gestantes (n=42)	
		≤ 32 Sem (n=30)	> 32 Sem (n=12)
VAL	144.7 ± 8.2 (128.6 - 160.7)	116.6 ± 8.1 (100.6 - 132.6)**	103.6 ± 7.7 (88.4 - 118.7)**
ILE	57.5 ± 3.1 (51.3 - 63.6)	51.5 ± 3.8 (44.0 - 58.9)	49.4 ± 5.4 (38.7 - 60.2)
LEU	96.0 ± 4.7 (86.8 - 105.2)	81.3 ± 6.6 (68.2 - 94.4)	73.5 ± 7.7 (58.3 - 88.7)*
THR	100.6 ± 5.3 (90.3 - 111.0)	82.8 ± 5.4 (72.2 - 93.4)*	70.7 ± 13.5 (44.1 - 97.2)**
MET	50.2 ± 3.5 (43.3 - 57.0)	38.3 ± 2.4 (33.6 - 43.1)**	42.1 ± 6.3 (29.7 - 54.5)
PHE	76.1 ± 5.6 (65.1 - 87.1)	75.7 ± 6.6 (62.7 - 88.6)	64.0 ± 11.0 (42.2 - 85.7)
TRP	30.1 ± 1.9 (26.4 - 33.9)	23.1 ± 2.4 (18.3 - 27.9)*	30.2 ± 4.9 (20.4 - 40.0)
HIS	64.5 ± 3.3 (57.9 - 71.1)	43.1 ± 2.6 (38.0 - 48.2)***	39.0 ± 4.8 (29.5 - 48.4)***
LYS	116.5 ± 11.8 (94.3 - 138.7)	85.8 ± 8.9 (68.2 - 103.4)	116.9 ± 18.1 (43.2 - 114.4)
CYS	40.4 ± 2.4 (35.7 - 45.1)	41.1 ± 4.0 (33.2 - 49.0)	31.5 ± 3.6 (24.3 - 38.5)
TAU	46.2 ± 2.6 (41.1 - 51.3)	33.9 ± 4.0 (26.0 - 41.7)**	43.9 ± 7.5 (29.0 - 58.7)
TYR	66.3 ± 5.9 (54.7 - 77.9)	54.3 ± 4.4 (45.6 - 63.0)	41.5 ± 6.2 (29.3 - 53.6)
ORN	46.0 ± 3.0 (40.1 - 51.9)	30.4 ± 3.0 (24.5 - 36.4)***	45.6 ± 8.2 (29.4 - 61.8)
ASP	18.8 ± 0.8 (17.2 - 20.4)	16.9 ± 0.7 (15.3 - 18.4)	17.8 ± 1.7 (14.5 - 21.1)
GLU	52.1 ± 3.6 (45.0 - 59.2)	41.5 ± 3.1 (35.3 - 47.6)	66.9 ± 7.4 (52.2 - 81.5)
SER	87.3 ± 4.5 (78.4 - 96.2)	70.1 ± 3.9 (62.3 - 77.9)**	65.8 ± 6.7 (52.5 - 79.1)*
GLY	189.4 ± 11.8 (166.2 - 212.6)	100.0 ± 4.3 (91.5 - 108.6)***	116.9 ± 12.8 (91.8 - 142.0)**
GLN	322.6 ± 16.8 (289.5 - 355.6)	226.9 ± 11.1 (205.1 - 248.8)***	202.5 ± 29.8 (143.9 - 261.0)***
ALA	153.2 ± 8.3 (136.7 - 169.5)	170.4 ± 13.5 (143.9 - 197.0)	163.3 ± 13.1 (137.6 - 189.0)
PRO	255.5 ± 14.5 (227.0 - 284.7)	202.9 ± 15.0 (173.5 - 232.4)**	232.9 ± 31.9 (164.4 - 301.3)***
ARG	174.2 ± 11.6 (151.3 - 197.0)	113.9 ± 8.5 (97.1 - 130.7)***	114.7 ± 14.7 (85.9 - 143.6)**

Los valores promedio de aminoácidos plasmáticos son expresados en $\mu\text{mol/L} \pm$ error standard.

La significancia es expresada solamente para los valores que fueron significativos con ambas pruebas, Dunnett ($P < 0.05$) y ANOVA (* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$), con respecto al control.

TABLE 3
Porcentaje de disminución de los valores de aminoácidos plasmáticos de adolescentes gestantes, modificados de acuerdo al periodo gestacional

	Grupo control (N= 41)	Gestantes (N=42)	
		≤ 32 SEM (N=30)	> 32 SEM (N=12)
VAL	144.7 ± 8.2	116.65 ± 8.1 (19.4%)**	103.6 ± 7.7 (28.4%)**
LEU	96.0 ± 4.7	81.34 ± 6.6 (15.3%)	73.5 ± 7.7 (23.4%)*
TAU	46.2 ± 2.6	33.92 ± 4.0 (26.6%)**	43.9 ± 7.6 (4.9%)
THR	100.6 ± 5.3	82.83 ± 5.4 (17.6%)*	70.7 ± 34.9 (29.7%)**
PRO	255.5 ± 14.5	202.97 ± 15.0 (20.5%)**	232.9 ± 3.6 (8.8%)
ORN	46.0 ± 3.0	30.49 ± 3.0 (33.7%)***	45.6 ± 8.2 (0.8%)
SER	87.3 ± 4.5	70.15 ± 3.9 (19.6)**	65.8 ± 6.7 (24.6%)*
GLY	189.4 ± 11.8	100.08 ± 4.3 (47.1%)****	116.9 ± 12.8 (38.2%)**
GLN	322.6 ± 16.9	226.98 ± 11.1 (29.6%)****	202.5 ± 29.9 (37.2%)***
ARG	174.2 ± 11.6	113.97 ± 8.5 (34.6%)***	114.8 ± 14.7 (34.1%)**

Los valores promedio de aminoácidos plasmáticos son expresados en $\mu\text{mol/L} \pm$ error standard.

Los valores que aparecen entre paréntesis expresan el porcentaje de disminución de los aminoácidos con respecto al control

La significancia es expresada solamente para aquellos valores que fueron estadísticamente significativos con las pruebas de Dunnett ($P < 0.05$) y ANOVA (* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$), comparados con el grupo control.

La Tabla 4 muestra el porcentaje de disminución de la sumatoria de algunos grupos de aminoácidos y sus relaciones, de acuerdo al progreso de la gestación. Nótese que la diferencia de los porcentajes de disminución de la sumatoria total molar de aminoácidos, de los aminoácidos esenciales y

de los no esenciales fue estadísticamente significativa, en forma progresiva desde el primer período de gestación. Los valores de la relación aminoácidos no esenciales vs aminoácidos esenciales no mostraron diferencias significativas durante la gestación.

TABLA 4
 Porcentaje de disminución de la sumatoria de algunos aminoácidos y sus relaciones en adolescentes embarazadas con nutrición adecuada pre-concepcional, de acuerdo al progreso de la gestación

	Grupo control (n= 41)	Gestantes (n=42)	
		≤ 32 Sem (n=30)	> 32 Sem (n=12)
ΣTOTAL AA	2188.3 ± 75.8	1701.5 ± 62.5 (22.2%)*	1695.1 ± 164.0 (22.5%)*
ΣVAL,ILE,LEU	298.2 ± 13.2	249.4 ± 16.1 (16.3%)*	226.6 ± 18.0 (24.0%)*
ΣAAE	736.3 ± 28.6	598.5 ± 32.0 (18.7%)*	551.5 ± 58.9 (25.1%)*
ΣAANE	1293.4 ± 49.6	984.2 ± 39.3 (23.9%)*	1012.5 ± 105.5 (21.7%)*
AANE/AAE	1.8 ± 0.1	1.7 ± 0.1	1.9 ± 0.1

Sem = Semanas de gestación.

ΣTOTAL AA= Sumatoria del total de aminoácidos plasmáticos analizados

AAE= Aminoácidos esenciales: Thr/His/Val/Ile/Leu/Phe/Trp/Lys/Met

AANE= Aminoácidos no esenciales: Asp/Glu/Ser/Gly/Gln/Ala/Pro/Arg/Cys

Los valores promedio de aminoácidos plasmáticos son expresados en umol/L ± error standard.

Los valores en paréntesis significan el porcentaje de disminución de la sumatoria de los aminoácidos indicados, con respecto al control.

La significancia es expresada solamente para los valores que fueron significativos con ambas pruebas, Dunnett (P<0.05) y ANOVA (*P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001, ****P<0.0001), comparados con el grupo control.

DISCUSION

Analizamos las características antropométricas de 100 adolescentes de la ciudad de Maracaibo y aplicamos puntos de corte para delimitar nutrición adecuada con cada uno de los índices antropométricos, detectando 11 adolescentes no gestantes y 6 gestantes con déficit nutricional, quienes fueron descartadas para el análisis de aminoácidos plasmáticos. El grupo de estudio quedó finalmente constituido por 41 adolescentes control y 42 gestantes saludables, con nutrición adecuada. Para detectar cambios en el perfil de aminoácidos plasmáticos durante la gestación, el grupo de adolescentes gestantes fue subdividido en: < 32 semanas y > 32 semanas de gestación. Para reconocer el estado nutricional de la embarazada nos basamos en el peso pre-gestacional y la ganancia de peso durante el embarazo. Esta última se deduce del conocimiento del peso pregestacional (o del primer trimestre del embarazo) y del peso de las últimas semanas del tercer trimestre del embarazo (27,28). En las gestantes adolescentes saludables, este incremento de peso incluye también el referente al crecimiento y desarrollo puberal propio del período de adolescencia (29). Una inadecuada ganancia de peso durante el embarazo conduce a malnutrición

gestacional. De acuerdo a Rosso (5), una inadecuada ingesta de energía conlleva a bajas ganancias de peso. Una mujer bien nutrida alcanza una ganancia de peso gestacional promedio de 11-13 kg; sin embargo, las ganancias absolutas de peso dependen de la talla de la madre. En nuestra población de adolescentes gestantes, la talla promedio fue de 156.5 cm, con un peso promedio pre-gestacional de 53.8 kg y una ganancia promedio de peso durante el tercer trimestre de gestación de 11 kg. Estos datos, aunque no son concluyentes pues ninguna de las adolescentes se encontraba en la última semana de gestación, son indicativos de que el grupo de adolescentes gestantes presenta una aparente nutrición adecuada.

El análisis de aminoácidos plasmáticos en las adolescentes control mostró que éstos se encontraban dentro de los rangos establecidos por otros investigadores en adolescentes saludables (21-23), o en niños mayores o adultos jóvenes (25,30). Sin embargo, al comparar estos valores con los de jóvenes de 16 años de países desarrollados como Canadá, reportados por Lepage et al. (23), evidenciamos que los valores de Val, Leu, Thr, Trp, Lys, Ser, Gln, Ala e His se encontraban cercanos o por debajo del percentil 10 del patrón de referencia canadiense. Otros, por el contrario, aparecieron

con valores cercanos o superiores al percentil 90, por ejemplo la Arg, Glu, Asp y Phe. Los valores del resto de los aminoácidos se ubicaban en el rango del percentil 10 al 90. Nuestros valores de Met son poco confiables, probablemente por defecto técnico en su cuantificación. La variabilidad, en disminución o en alza de los valores de algunos aminoácidos en nuestras adolescentes saludables, con respecto a los adolescentes canadienses de Lepage et al. (23) pudiera deberse más a las costumbres dietarias de nuestra población, habituadas a un ambiente tropical, o a sus características metabólicas o genéticas. Dada la condición de saludables y adecuadamente nutridas de nuestro grupo de adolescentes, y su homogeneidad étnica, los valores de aminoácidos plasmáticos encontrados por nosotros podrían reflejar el perfil de aminoácidos plasmáticos de adolescentes no gestantes de Maracaibo - Venezuela.

En cuanto a las adolescentes gestantes saludables, nuestro estudio no fue longitudinal, sino transversal (el análisis puntual de una embarazada en un momento dado de su gestación), por lo que solo fue posible analizar 3 gestantes de menos de 13 semanas de gestación, no ofreciendo los valores de aminoácidos garantías de confiabilidad. En el grupo < 32 semanas de gestación se observó disminución significativa alta ($p < 0.0001$) de la Gln, Gly y Pro seguida de Arg, Ser, Orn y Tau. Algunos de estos aminoácidos acentuaron su porcentaje de disminución después de las 32 semanas, como la Gln, Arg, Thr, Val y Ser; mientras que la Tau, Pro y Orn mostraron signos evidentes de recuperación. La Gly, a pesar de mostrar cierta recuperación, mantiene aun en el segundo período el más alto porcentaje de disminución. Así mismo, la sumatoria total molar de aminoácidos así como la de los aminoácidos de cadena ramificada se mostraron reducidas desde el primer período de la gestación. La reducción de los aminoácidos de cadena ramificada ocurre a expensas de la Val y la Leu. De igual manera, las sumatorias de los aminoácidos esenciales y no esenciales aparecieron significativamente disminuidas desde el primer período de la gestación; sin embargo, la relación molar entre ambos grupos de aminoácidos no se alteró con el embarazo.

El hallazgo de la disminución plasmática de aminoácidos esenciales y no esenciales, a lo largo del embarazo en las adolescentes es similar a los reportados por otros autores (4,6,11,31-33) en mujeres adultas gestantes. Aunque la mayoría de tales estudios se basan en relaciones entre los aminoácidos plasmáticos de la madre y del feto, hay coincidencias que los aminoácidos maternos aparecen significativamente disminuidos con respecto a los del feto; y que esta relación es estable cuando los infantes nacen con adecuada edad gestacional, no así cuando los niños son pequeños para su edad gestacional. En nuestra investigación no es posible conocer si la hip aminoacidemia presente en las embarazadas adolescentes tiene relación con los valores

del feto, porque no fue éste nuestro objetivo. Se ha establecido que los valores de aminoácidos plasmáticos maternos que decrecen durante la gestación retornan a la normalidad en la primera semana del puerperio y que la reducción de aminoácidos se establece desde el primer trimestre (34). Sin embargo, no hay acuerdo sobre los cambios que ocurren en las concentraciones de aminoácidos individuales a lo largo del embarazo, con excepción de la Lys, la cual es reportada disminuida en varias de las investigaciones, aunque parece que este aminoácido no solo es transferido de la madre al feto, sino que es también sintetizado en la unidad feto-placentaria (35). Young y Prenton (36) reportaron disminución altamente significativa de las concentraciones de Ala, Ser y Cys en el plasma materno en las semanas 16-19 de gestación, comparándolas con las concentraciones al final del embarazo; mientras que Schoengold et al. (34) reportaron un incremento significativo de Thr y un descenso de Arg en el segundo y tercer trimestre. En nuestras gestantes adolescentes, el porcentaje de disminución del total de aminoácidos se mantuvo alrededor del 22% durante toda la gestación. Sin embargo, tres de los aminoácidos afectados son considerados esenciales (Val, Leu, Thr); cuatro, condicionalmente esenciales (Gly, Ser, Tau y Arg); y dos, no esenciales, Gln y Pro. Estudios en fetos humanos sobre maduración enzimática sugieren que el feto puede necesitar como esenciales, algunos aminoácidos cuyo aporte dietético en la vida post-natal no es esencial (37,38). De allí que sea comprensible la disminución de aminoácidos como Gly, Ser y Arg. La Gln y la His regulan directamente en el hígado la proteólisis, la cual tiene un efecto de balance para el remodelaje, mantenimiento y función de la estructura celular (39). Además, la Gln, Gly, Thr, Pro y Ser son neoglucogénicos, por lo que la disminución de sus valores en el plasma de las gestantes es indicativo de la alta función de tales aminoácidos como suplidores de energía. En consecuencia, el descenso de aminoácidos neoglucogénicos en las adolescentes embarazadas parece producirse ante un incremento del requerimiento energético por el doble estrés nutricional, el desarrollo puberal de la adolescente y el requerimiento energético y protéico del ser en formación.

El crecimiento y desarrollo fetal depende exclusivamente de la transferencia de aminoácidos desde la sangre materna hacia la fetal, a través de la membrana plasmática de las microvellosidades y la membrana basal del sincitiotrofoblasto placentario (13-15,32,40-43). La alta transferencia de aminoácidos maternos hacia el feto se relaciona con la alta tasa de recambio protéico que el feto requiere para su crecimiento, teniendo en cuenta sin embargo, que todos los aminoácidos estén presentes simultáneamente en concentraciones específicas. Un déficit de uno o más aminoácidos podría, potencialmente, impedir la síntesis de las proteínas necesarias para el crecimiento

fetal (44). Si los déficits específicos de nutrientes son identificados, se podrían clarificar los mecanismos del retardo de crecimiento intra uterino y establecerse en el futuro, estrategias directas para el manejo de los fetos malnutridos (11,45). Por otro lado, se han hecho intentos por aumentar la concentración de aminoácidos plasmáticos de la madre, mediante la administración endovenosa de aminoácidos específicos, obteniéndose un incremento en la concentración de la mayoría de los aminoácidos plasmáticos fetales, con excepción de la Lys, His y Thr (46,47). El descenso marcado, hasta cinco veces, de Arg ha sido relacionado con pre-eclampsia en gestantes (48). En nuestro estudio se observó descenso moderado de este aminoácido (un tercio) y ninguna de las adolescentes presentó signos de pre-eclampsia. El hecho de que nuestro grupo de embarazadas mantuviera un adecuado estado nutricional hace suponer que, efectivamente, la hipoaminoacidemia presente es fisiológica, ligada al proceso del embarazo per se, mas que a alguna alteración nutricional, y al incremento del volumen plasmático de la madre.

De nuestra investigación, podemos concluir que: 1.- El perfil de aminoácidos plasmáticos de nuestras adolescentes saludables, gestantes y no gestantes, pudiera ser tomado como patrón de referencia de adolescentes de Maracaibo, para futuros estudios sobre malnutrición en adolescentes y durante el embarazo. 2.- El comportamiento gestacional de los aminoácidos plasmáticos de nuestras adolescentes embarazadas saludables, es similar al de mujeres embarazadas de mayor edad, y 3.- La hipoaminoacidemia que se presenta durante el embarazo parece deberse al mayor funcionamiento placentario para captar y suplir nutrientes al feto, y a la hemodilución, producto del aumento del volumen plasmático y sanguíneo.

REFERENCIAS

- García M, Dini E. Alimentación en el adolescente. En: Nutrición en Pediatría. Centro de atención infantil Antimano CANIA. Fundación Polar (Publ) Capitulo 8. 1999:137 - 45.
- Eisenstein E. Nutrición y salud en la adolescencia. En: Maddaleno M, Munist MN, Serrano CU, Silber TJ, Suarez Ojeda EN, Yunes J, editors. La Salud del Adolescente y del Joven. Organización Panamericana de la Salud. Publicación científica N° 552, 1995: 144 - 54.
- Dwyer J. Adolescencia. En: Ziegler EE, Filer Jr. LJ, editors. Conocimientos actuales sobre nutrición. Séptima Edición. Organización Panamericana de la Salud OPS. Publicación Científica N° 565. 1997: 431- 41.
- Duggleby SL, Jackson AA. Higher weight at birth is related to decreased maternal amino acid oxidation during pregnancy. Am J Clin Nutr 2002; 76 (4): 852 - 7.
- Rosso PR. Prenatal nutrition and brain growth. En: van Gelder NM, Butterworth RF, Drujan BD, editors. (Mal)nutrition and the Infant Brain. Neurology and Neurobiology Vol 58 Wiley - Liss, Inc New York 1990:25 - 40.
- Susser M. Nutrition, brain development and mental performance. The challenge of causality. En: van Gelder NM, Butterworth RF, Drujan BD, editors. (Mal)nutrition and the Infant Brain. Neurology and Neurobiology Vol 58. Wiley - Liss, Inc New York 1990: 1 - 19.
- Wolke D. Annotation: Supporting the development of low - birthweight infants. J Child Psychol Psychiat 1991; 32: 723 - 41.
- Mutch L, Leyland A, McGee A. Patterns of neuropsychological function in a low - birth - weigh population. Dev Med Child Neurol 1993; 35: 943 - 56.
- Morgane PJ, Austin - La France R, Bronzino J, Tonkiss J, Diaz - Cintra S, Cintra L, et al. Prenatal malnutrition and development of the brain. Neurosc Biobehav Reviews 1993; 17: 91- 128.
- Susser ES, Ling SP. Schizophrenia after prenatal exposure to the Dutch hunger winter of 1944 - 45. Arch Gen Psychiatry 1992; 49: 983 - 8.
- Cetin I. Amino acid interconversions in the fetal-placental unit: the animal model and human studies in vivo. Pediatr Res 2001; 49 (2):148 - 54.
- Jozwik M, Teng C, Wilkening RB, Meschia G, Tooze J, Chung M, Battaglia FC. Effects of branched-chain amino acids on placental amino acid transfer and insulin and glucagon release in the ovine fetus. Am J Obstet Gynecol 2001; 185 (2): 487 - 95.
- Paolini CL, Meschia G, Fennessey PV, Pike AW, Teng C, Battaglia FC, Wilkening RB. An in vivo study of ovine placental transport of essential amino acids. Am J Physiol Endocrinol Metab 2001; 280 (1): E31 - 9.
- Jansson T. Amino acid transporters in the human placenta. Pediatr Res 2001; 49 (2):141 - 7.
- Battaglia FC, Regnault TR. Placental transport and metabolism of amino acids. Placenta 2001; 22 (2-3):145 - 61.
- Domenech M, Gruposo PA, Nishino VT, Susa JB, Schwartz R. Preserved fetal plasma amino acid concentrations in the presence of maternal hipoaminoacidemia. Pediatric Res 1986; 20:1071 - 6.
- Tapiero H, Gate L, Tew KD. Fetal nutrition: how we become what we are. J Pediatr Gastroenterol Nutr 2001; 33(3): 233 - 44.
- Ghisolfi J, Charlet P, Ser N, Salvayre R, Thouvenot JP and Duole C. Plasma free amino acids in normal children and in patients with proteinocaloric malnutrition: fasting and infection. Pediatr Res 1978; 12: 912 - 17.
- Jaffé E, Obregón F, Rebrig C and Lima L. Plasma amino acids in children under two years of age with severe undernutrition. Increase of taurine in Kwashiorkor. Nutr Neurosci 1998; 1: 243 - 50.
- Ortega P, van Gelder NM, Castejón HV, Gil NM, Urrieta JR. Imbalance of individual plasma amino acids relative to valine and taurine as potential markers of childhood malnutrition Nutr Neurosci 1999; 2: 163 - 73.
- Ghisolfi J, Augier D, Regnier C and Dalous A. Etude des variations physiologiques en fonction de l'âge du taux des acides amines libres plasmatiques chez l'enfant normal. Arch Franc Péd 1973; 30: 951 - 7.

22. Gregory DM, Sovetts D, Clow CL, Scriver CR. Plasma free amino acid values in normal children and adolescents. *Metabolism* 1986; 35: 967 - 9.
23. Lepage N, McDonald N, Dalleire L, Lambert M. Age - specific distribution of plasma amino acid concentrations in a healthy pediatric population. *Clin Chem* 1997; 43: 2397 - 402.
24. Méndez Castellano H, Méndez MC. Estratificación social. Método Graffar modificado para Venezuela. *Arch Venez Puer Ped* 1986; 49: 93 - 104.
25. Sarwar G, Botting HG. Rapid analysis of nutritionally important free amino acids in serum and organs (liver, brain, and heart) by liquid chromatography of precolumn pheny - lisothiocyanate derivatives *J Assoc Anal Chem* 1990; 73 (3): 470 - 5.
26. Sarwar G, Botting HG. Evaluation of liquid chromatographic analysis of nutritionally important amino acids in food and physiological samples. *J Chromatogr* 1993; 615: 1 - 22.
27. Krasovec K. Aumento de peso en la gestación. Temas fundamentales. Capitulo 1. En: Krasovec K, Anderson MA, editors. *Nutrición Materna y Producto del Embarazo*. Organización Panamericana de la Salud OPS. Publicación científica No 529, 1991: 17 - 31.
28. Schieve LA, Cogswell ME, Scanlon KS. Maternal weight gain and preterm delivery: Differential effects by body mass index. *Epidemiology* 1999; 10: 141- 7.
29. Scholl TO, Hediger ML. A review of the epidemiology of nutrition and adolescent pregnancy: maternal growth during pregnancy and its effects on the fetus. *J Am Coll Nutr* 1993; 12: 101 - 7.
30. Scriver CR, Clow CL, Lamm P. Plasma amino acids: screening, quantitation and interpretation. *Am J Clin Nutr* 1971; 24: 876 - 90.
31. Whittaker PG, Lee CH, Taylor R. Whole body protein kinetics in women: effect of pregnancy and IDDM during anabolic stimulation. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2000; 279 (5): E978 - 88.
32. Thureen PJ, Anderson SM, Hay WW. Regulation of uterine and umbilical amino acid uptakes by maternal amino acid concentrations. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2000; 279 (3): R849 - 59.
33. Kalhan SC. Protein metabolism in pregnancy. *Am J Clin Nutr* 2000; 71 (Suppl 5): 1249S - 55S.
34. Schoengold DM, De Fiore RH, Parlett RC. Free amino acids in plasma throughout pregnancy. *Am J Obst Gynecol* 1978; 131: 490 - 9.
35. Cetin I. Amino acid interconversion in the fetal - placental unit. *The animal mother and human studies in Vivo*. *Pediatr Res* 2001; 49: 148 - 54.
36. Young M, Prenton MA. Maternal and fetal plasma amino acid concentrations during gestation in retarded fetal growth. *J Obstet Gynaecol Brit Commonw* 1969; 76: 333 - 44.
37. Gaull GE. Taurine in pediatric nutrition: Review and update. *Pediatrics* 1989; 83: 433 - 42.
38. Rosso PR. Requerimientos nutricionales del feto humano. In: Cuminsky M., Moreno EM., Suarez Ojeda EN, editors. *Crecimiento y desarrollo. Hechos y tendencias*. Organización Panamericana de la Salud OPS. Publicación Científica N° 510, 1988: 120 - 30.
39. Bergamini E, Bombara M, Del Rosso A, Gori Z, Maziello P, Masini M, et al. The regulation of liver protein degradation by amino acids *in vivo*. Effects of glutamine and leucine. *Arch Physiol Biochem* 1995; 103: 512 - 5.
40. Battaglia FC, Regnault TR. Placental transport and metabolism of amino acids. *Placenta* 2001; 22 (2-3): 145 - 61.
41. Jansson T. Amino acid transporters in the human placenta. *Pediatr Res* 2001; 49 (2): 141 - 7.
42. Ayuk PT, Sibley CP, Donnai P, D'Souza S, Glazier JD. Development and polarization of cationic amino acid transporters and regulators in the human placenta. *Am J Physiol Cell Physiol* 2000; 278 (6): C1162 - 71.
43. Harrington B, Glacier J, D'Souza S, Colin S. System A amino acid transporter activity in human placental microvillous membrane vesicles in relation to various anthropometric measurements in appropriate and small - for - gestational - age babies. *Pediatr Res* 1999; 45: 810 - 4.
44. Harper AE, Yoshimura NN. Protein quality, amino acid balance, utilization, and evaluation of diets containing amino acids as therapeutic agents. *Nutrition* 1993; 9: 460 - 9.
45. Paolini CL, Marconi AM, Ronzoni S, Di Noio M, Fennessey PV, Pardi G, Battaglia FC. Placental transport of leucine, phenylalanine, glycine, and proline in intrauterine growth-restricted pregnancies. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86 (11): 5427 - 32.
46. Ronzoni S, Marconi AM, Cetin I, Paolini CL, Ting C, Pardi G, Battaglia FC. Umbilical amino acid uptake at increasing maternal concentration: effect of a maternal amino acid infusate. *Am J Obstet Gynecol* 1999; 181: 477 - 83.
47. Ronzoni S, Marconi AM, Paolini CL, Teng C, Pardi G, Battaglia FC. The effect of a maternal infusion of amino acids on umbilical uptake in pregnancies complicated by intrauterine growth restriction. *Am J Obstet Gynecol* 2002; 187 (3): 741 - 6.
48. D'Aniello G, Tolino A, Fisher G. Plasma L-arginine is markedly reduced in pregnant women affected by preeclampsia. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl* 2001; 753 (2): 427 - 31.

Recibido: 06-08-2001

Aceptado: 29-01-2003

Comparison of serum concentration and dietary intake of α -tocopherol in a sample of urban and rural Costa Rican adolescents

Rafael Monge-Rojas, Thelma Alfaro Calvo, Hilda Nuñez Rivas

Costa Rican Institute for Research and Education on Nutrition and Health (INCIENSA) Tres Ríos, Costa Rica

SUMMARY. Results from several studies have suggested that vitamin E intake could inhibit the progression of atherosclerotic lesions. Therefore, this study was designed to evaluate Costa Rican adolescents' serum α -tocopherol levels and their correlation with Body Mass Index (BMI) and the dietary intake of vitamin E and saturated and polyunsaturated fat. Ninety-five healthy, non-smoking adolescents and non-vitamin supplement users (aged 13-18) from urban and rural areas in San José, Costa Rica, were included in this study. Serum levels of lipid adjusted α -tocopherol were significantly higher in rural adolescents compared with urban youngsters ($4.192 \mu\text{mol}/\text{mmol} \pm 0.831$ and $3.486 \mu\text{mol}/\text{mmol} \pm 0.996$, respectively). Likewise, reported mean daily 1000 kcal adjusted-vitamin E intake was higher in rural adolescents than in urban youngsters (9.2 ± 3.7 mg, 16.0 ± 8.7 mg). An important correlation was observed between intake of energy from saturated fat and adjusted- α -tocopherol serum levels ($r = 0.430$). Contrariwise, they correlated poorly with dietary α -tocopherol ($r = 0.273$), suggesting that serum is not a good biomarker of intake for α -tocopherol. Additionally, our results showed a negative relationship between BMI and adjusted-serum vitamin E levels ($\beta = -0.189$; CI 95% $-0.153, -0.013$). The analysis of vitamin E intake showed that over 25% of adolescents have inadequate intake of the nutrient. This study suggests that nutritionists and pediatricians should encourage α -tocopherol intake and monitor the food sources of the nutrient and the adolescents' body weight as part of the strategies aimed at developing a healthy lifestyle.

Key words: α -tocopherol, vitamin E, dietary intake, serum levels, adolescents, Costa Rica.

RESUMEN. Comparación de la concentración sérica y del consumo de α -tocopherol en una muestra de adolescentes urbanos y rurales de Costa Rica. Los resultados de diferentes estudios han sugerido que el consumo de vitamina E puede inhibir el progreso de las lesiones ateroscleróticas. Por tanto, este estudio fue diseñado para evaluar los niveles séricos de α -tocopherol en adolescentes costarricenses y su relación con el Índice de Masa Corporal (IMC), el consumo de vitamina E, grasa saturada y poliinsaturada. Noventa y cinco adolescentes (13-18 años) saludables, no fumadores, no consumidores de suplementos vitamínicos y habitantes del área urbana y rural de San José-Costa Rica fueron incluidos en el estudio. Los niveles séricos de α -tocopherol ajustados por lípidos fueron significativamente mayores en adolescentes rurales que en urbanos ($4.192 \mu\text{mol}/\text{mmol} \pm 0.831$ y $3.486 \mu\text{mol}/\text{mmol} \pm 0.996$ respectivamente). Así mismo, el consumo diario de vitamina E ajustado por 1000 Kcal fue mayor en los jóvenes rurales que en los urbanos (9.2 ± 3.7 mg, 16.0 ± 8.7 mg). Los datos mostraron una importante correlación entre la ingesta de energía derivada de grasa saturada y los niveles séricos de α -tocopherol ajustados por lípidos ($r = 0.430$). Por el contrario se evidenció una débil correlación entre estos y la ingesta de vitamina E ($r = 0.273$), sugiriendo que los niveles séricos no son buenos biomarcados de la ingesta del nutriente. Adicionalmente, se determinó una relación negativa entre los niveles séricos de vitamina E ajustada por lípidos y el IMC ($\beta = -0.189$; IC 95% $-0.153, -0.013$). El análisis de la ingesta de vitamina E mostró que más del 25% de los adolescentes presenta un consumo inadecuado de este nutriente ($< 2/3$ DRI). Nuestros datos sugieren que los nutricionistas y pediatras deben promover el consumo de α -tocopherol y monitorear las fuentes alimentarias de este nutriente y el peso corporal de los adolescentes como parte de las estrategias orientadas al desarrollo de un estilo de vida saludable.

Palabras clave: α -tocopherol, vitamina E, consumo dietético, niveles séricos, adolescentes, Costa Rica.

INTRODUCTION

Diet is a significant issue in the prevention of primary and secondary Coronary Heart Disease (CHD) (1). Some dietary factors that protect against the development of CAD and other dietary factors are pathogenic, enhancing atherosclerosis. Several lines of scientific evidence have

shown that some of the saturated fatty acids, particularly myristic and lauric acids contribute to the causation of atherosclerosis (1-3), while α -tocopherol may play a role in prevention (4-6). Vitamin E has been identified recently as a favorable modulator of several atherogenic processes at the molecular and cellular levels (7).

Vitamin E, mainly α -tocopherol, is the major fat-soluble antioxidant present in the LDL particle. On average, 5-9 vitamin E molecules are carried by each LDL particle and protect it from oxidative modification (7-10). In addition, α -tocopherol is incorporated into other components of the vascular system, including endothelial cells, smooth muscle cells, platelets and immune cells, and has been shown to modulate a variety of inflammatory processes that are involved in atherosclerosis (7,10,11). Vitamin E suppresses expression of adhesion molecules on endothelial cells and ligands on monocytes and reduces their adhesive interactions, which is an important early event in the initiation of fatty streak formation and atherogenesis (7,10,14).

A substantial body of evidence has indicated that dietary antioxidants might reduce the risk of atherosclerosis (7). In several studies in adults, high vitamin E intake has been shown to be associated with reduced CHD risk (15-16). Additionally, several studies have shown that subnormal α -tocopherol plasma levels may contribute to the increased risk of atherosclerosis, mainly in obese subjects (17).

Since the process of atherosclerosis begins early in life (18,19), the evaluation of CHD risk factors previously identified in older subjects is essential during adolescence for stemming disease progression in later years. This is vital in Costa Rica where CHD represents the leading cause of death among adults (20).

This study was conducted to evaluate Costa Rican adolescents' serum α -tocopherol levels and their correlation with Body Mass Index (BMI) and the dietary intake of vitamin E and saturated and polyunsaturated fat.

SUBJECTS AND METHODS

Participants in this study were healthy, non-smoking and non-vitamin supplement using high school students. Adolescents were selected at random from 10 public high schools in urban and rural areas in the Province of San José. The high schools were selected with probability proportional to size from a list of all public high schools in the study area. Both parents and students gave their written consent to participate in the study. Ethical permission for the study was obtained from the Costa Rican Institute for Research and Education on Nutrition and Health's (Inciensa) Ethics Committee.

After 12-h fasting, blood samples were collected from the antecubital vein. Serum Vitamin E levels were measured by HPLC, based on the methodology recommended by Beiri et al. (21). Serum α -tocopherol concentration was adjusted for serum lipids by dividing by the sum of serum cholesterol and triglyceride concentration, as has been suggested by Thurman et al. (22) and Horwitt et al. (23). Serum lipids were determined by enzymatic methods (Wiener), using an

automatic analyzer (ASCA; LSI Instruments).

Quartiles and deciles of serum adjusted- α -tocopherol levels were calculated based on the entire adolescent population. Comparisons were made in the proportions of urban and rural adolescents at 10th and 25th percentiles of adjusted- α -tocopherol levels.

Vitamin E intake was determined using prospective 3-d diet records including two weekdays and one weekend day. Series of three to six photographs of food usually eaten in Costa Rica were used for each adolescent to estimate portion size while keeping food records (24). Foods and three-dimensional food models were used to verify the size of some portions reported by adolescents. The Food Processor® for Windows version 6.0 (Esha Research, Salem, Oregon) was used to perform nutrient calculations from dietary data. Two thirds (or 66.7%) or less of the Dietary Reference Intake (DRI) for vitamin E (25) was used as the criterion for inadequate intake of this nutrient. Because the consumption of nutrients is at least partially dependent on total energy intake, and because the nutrient density of the diet is in this instance more relevant than actual gross intake, an adjustment for energy intake by computing nutrient intakes per 1000 kcal was performed.

Food groups were created to identify dietary sources of vitamin E. The contribution of total dietary vitamin E by each food group was determined using the following formula: (total grams of dietary vitamin E from all foods in a group)÷(total grams of dietary vitamin E from all foods).

Overweight was estimated using the Body Mass Index (weight / height²). Weight was measured without shoes and with heavy outer clothing removed. Height was measured with the student shoeless and facing away from the scale. Standing height was measured to the nearest 0.1 cm and weight was measured to the 0.1 kg. Independent duplicate measurements were obtained for height and weight, and the average of the two readings, required to be within \pm 0.5 cm or 0.5 kg respectively, was used in data analysis.

Children with Body Mass Index (BMI) \geq 85th percentile were considered to be overweight as suggested by the World Health Organization Expert Committee (26). In the absence of other data specifying optimum cut-off values for BMI in children; the BMI for age data for US children were used, as recommended by the WHO Expert Committee (26).

Data were examined with SPSS for Windows using the Mann-Whitney test to determine significant differences in lipids, dietary intake, and lipid adjusted- α -tocopherol levels between gender and geographic area. Differences in proportions were assessed with chi-square analysis. A Spearman correlation was calculated to determine associations between BMI, fat and vitamin E intake and adjusted- α -tocopherol serum levels. Multiple regression analysis was used to develop a model with serum adjusted-

α -tocopherol as dependent variables. After examining univariate relationships between variables, multivariate stepwise models were initially used to identify which of the correlated variables provided the best model. Co-linearity was minimized by this approach, and correlation coefficients between independent variables included in the regression models did not exceed 0.3. A level of $p < 0.05$ was considered significant.

RESULTS

Of the 100 adolescents selected, those without the parents' written consent to participate in the study, or those with missing serum samples were excluded ($n = 5$). The final

sample size of 95 adolescents consisted of 50 males ($x \pm SD$ age: 16.5 ± 2.0 y) and 45 females (aged 15.9 ± 1.7 y). Forty-eight percent of the sample was randomly selected from the urban area and fifty-two percent from the rural area. All adolescents were from the same ethnic background (Mestizo).

The mean values for serum cholesterol and triglyceride levels from the adolescent population studied are presented in Table 1. There were no significant differences between urban and rural youngsters. Nevertheless, mean values for TC and TG for boys and girls were significantly different. TC mean value was 0.45 mmol/L lower in boys than girls ($p=0.001$), for whom it was 4.14 mmol/L. Likewise TG levels were 0.15 mmol/L lower in boys than girls ($p=0.001$), for whom it was 1.32 mmol/L.

TABLE 1
Characteristics of the study population

Characteristic	Total population	Urban adolescents	Rural adolescents	<i>p value</i> ¹	Males	Females	<i>p value</i> ¹
N	95	46	49	—	50	45	—
Age (y)	15.7 ± 1.9	15.7 ± 1.9	15.8 ± 1.8	0.804	16.5 ± 2.0	15.9 ± 1.7	0.574
Body Mass Index (BMI)	20.7 ± 3.1	20.6 ± 2.8	20.8 ± 3.4	0.507	20.5 ± 3.7	21.1 ± 2.2	0.104
Overweight (%)	12.2	16.1	8.2	0.532	12.4	11.8	0.312
Total cholesterol (mmol/L)	3.90 ± 0.66	3.98 ± 0.77	3.83 ± 0.53	0.628	3.69 ± 0.61	4.14 ± 0.64	0.001
Triglyceride (mmol/L)	1.24 ± 0.34	1.18 ± 0.27	1.29 ± 0.39	0.229	1.17 ± 0.35	1.31 ± 0.31	0.001
Lipid adjusted - α -tocopherol ($\mu\text{mol}/\text{mmol}$)	3.85 ± 0.91	3.48 ± 0.99	4.19 ± 0.83	0.000	3.72 ± 0.87	3.98 ± 1.07	0.412
Energy intake (Kcal)	2119 ± 729	2128 ± 727	2112 ± 731	0.911	2290 ± 755	1930 ± 648	0.005
Vitamin E intake (mg α -TE)	27.6 ± 15	20.3 ± 11.9	33.3 ± 19	0.022	28.3 ± 15.3	27.0 ± 12.5	0.889
Vitamin E intake/1000 Kcal (mg α -TE)	13.0 ± 6.2	9.2 ± 3.7	16.0 ± 8.7	0.005	11.7 ± 8.8	14.5 ± 7.1	0.268
Energy from saturated fat (%)	13.2 ± 5.1	11.2 ± 4.2	15.3 ± 6.2	0.001	13.4 ± 4.2	12.6 ± 5.9	0.908
Energy from polyunsaturated fat (%)	5.9 ± 2.7	6.6 ± 2.8	5.4 ± 2.6	0.026	5.5 ± 2.0	6.3 ± 3.2	0.758

¹Tested with Mann-Whitney test

Lipid-adjusted serum vitamin E averaged 3.85 ± 0.976 mol/mmol (Table 1). Levels of serum adjusted α -tocopherol were significantly higher in rural adolescents compared with urban youngsters. There were no significant differences between boys and girls. Percentiles of adjusted-serum α -tocopherol levels are shown in Table 2. Adjusted serum α -tocopherol levels were below the lowest quartile (≤ 3.158 $\mu\text{mol}/\text{mmol}$) in 43.5% of urban adolescents compared with only 4.1% of rural adolescents ($p < 0.001$). In addition, α -tocopherol levels were below the lowest decile (≤ 2.791 $\mu\text{mol}/\text{mmol}$) in 17.4% of urban youngsters compared with 2.0% of rural adolescents ($p < 0.001$).

Table 1 shows the reported mean daily vitamin E intake. Mean intake was higher in rural adolescents than in urban youngsters (33.3 mg ± 19.2 and 20.3 mg ± 11.9 respectively, $p = 0.022$). This pattern was similar even when vitamin E intake was adjusted per 1000 Kcal. Likewise, although total energy intake was higher in males than in females ($p = 0.005$),

no differences between the boys' and girls' energy-adjusted vitamin E intake was found ($p = 0.268$).

TABLE 2
Percentiles of adjusted- α -tocopherol levels for a sample of Costa Rican adolescents

Percentiles	Total population	Urban adolescents	Rural adolescents	Males	Females
10	2.787	2.407	3.414	2.499	2.922
20	3.031	2.825	3.499	2.945	3.087
25	3.158	2.904	3.599	3.214	3.155
30	3.414	2.936	3.724	3.437	3.250
40	3.494	3.065	3.859	3.494	3.489
50	3.650	3.342	4.056	3.582	3.780
60	3.861	3.476	4.360	3.771	4.229
70	4.358	3.558	4.496	3.998	4.464
75	4.440	3.614	4.578	4.363	4.578
80	4.606	4.110	4.619	4.476	4.691
90	5.191	5.143	5.328	5.175	5.477

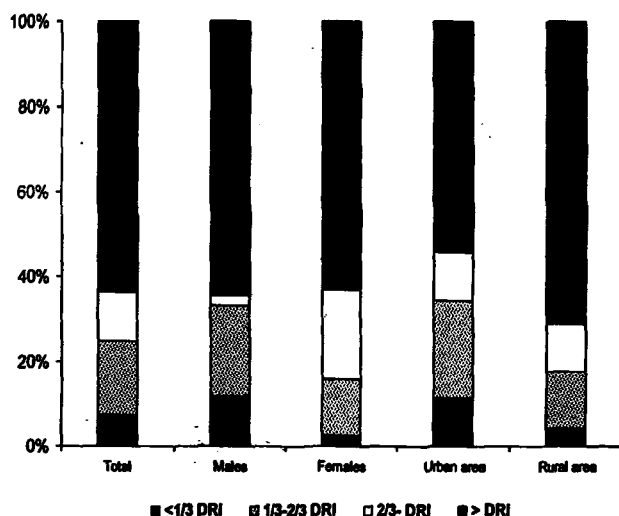
Rural adolescents reported a significantly greater energy intake from saturated fat than urban youngsters ($p=0.001$), who reported a higher intake of energy from polyunsaturated fatty acids ($p=0.026$) (Table 1).

Palm shortening contributed to 76% of vitamin E intake in rural areas and 35% in urban areas. Soy-bean oil contributed 15% of α -tocopherol in urban areas and only 3% in rural areas. Margarine was the second contributor of vitamin E. It contributed more α -tocopherol in urban than in rural areas (35% and 8% respectively, $p < 0.001$).

Over 25% of the adolescents did not meet sixty-six percent of the DRI for vitamin E (Figure 1). The proportion of urban adolescents and males who did not meet 2/3 DRI for vitamin E tended to be higher (although not significantly) than the proportion of rural youngsters and females.

FIGURE 1

Percentage of Costa Rican adolescents meeting the Dietary Reference Intake (DRI) for vitamin E



The mean BMI was 20.7 ± 3.1 (Table 1). There were no significant differences between urban and rural adolescents. The prevalence of overweight was 12.2%. Overweight prevalence tends to be higher, although not significantly, in urban adolescents than in rural youngsters. No differences were found between genders.

Spearman correlation coefficients between dietary variables, BMI and lipid-adjusted α -tocopherol are shown in Table 3. The strongest correlation was observed between the intake of energy from saturated fat and adjusted- α -tocopherol serum levels ($r = 0.430$). Contrariwise, serum adjusted α -tocopherol correlated poorly with dietary intake of α -tocopherol ($r = 0.273$), energy from polyunsaturated fat ($r = -0.283$) and BMI ($r = -0.209$). Dietary vitamin E correlated strongly with energy from saturated fat ($r = 0.813$) and negatively with energy from polyunsaturated fat ($r = -0.365$).

TABLE 3

Spearman correlation coefficients (and p value) between dietary variables, Body Mass Index and lipid adjusted- α -tocopherol serum levels

Variables	Lipid adjusted α -tocopherol	Vitamin E intake
Vitamin E intake	0.273 (0.016)	
Energy from saturated fat intake	0.430 (0.000)	0.813 (0.000)
Energy from polyunsaturated fat intake	-0.283 (0.013)	-0.365 (0.001)
Body Mass Index	-0.209 (0.045)	0.022 (0.849)

A linear regression model with adjusted-serum vitamin E levels as dependent variables is presented in Table 4. This regression model explained about 27% of the variance in Costa Rican adolescents' serum vitamin E levels. After adjustment for age, a negative relationship between geographic area (95% CI -1.104, -0.264), gender (95% CI -0.819, -0.026), BMI (95% CI -0.153, -0.013) and adjusted-serum vitamin E levels was found. Dietary variables were not important predictors for adjusted- α -tocopherol serum levels.

TABLE 4

Regression models with lipid adjusted- α -tocopherol levels as dependent variable

Independent variables	Estimated coefficient	95% CI
Adjusted-α-tocopherol levels		
Age	-0.013	-0.105, 0.130
Gender ¹	-0.422	-0.819, -0.026
Area ²	0.684	-1.104, -0.264
Body Mass Index	-0.189	-0.153, -0.013
Energy from saturated fat	0.061	-0.002, 0.015
Energy from polyunsaturated fat	0.011	-0.067, 0.090
$R^2 = 0.274$		

¹ Male=1, Female = 0, ² Urban=1, Rural=0

DISCUSSION

This study demonstrates that the levels of serum α -tocopherol are significantly lower in urban Costa Rican adolescents compared with those adolescents living in rural areas. The adjusted-vitamin E serum levels in rural adolescents observed were similar to those reported by Decsi et al. for non-obese adolescents (17). An important prevalence of adjusted-serum vitamin E levels lower than $2.7 \mu\text{mol}/\text{mmol}$ was found in urban youngsters. This requires more study, as levels of adjusted-vitamin E lower than $2.67 \mu\text{mol}/\text{mmol}$ have been associated with higher rates of plasma lipid oxidation compared with levels higher than $3.39 \mu\text{mol}/\text{mmol}$ (27).

We found a small correlation between dietary vitamin E and adjusted- serum α -tocopherol ($r = 0.274$), suggesting that serum is not a good biomarker of intake for α -tocopherol. This finding is consistent with other studies including subjects who were not taking vitamin supplements (28-30). This smaller correlation may be due, at least in part, to genetic differences in absorption and metabolism. Polymorphisms in the α -TTP gene have been associated with low plasma concentrations of α -tocopherol in subjects with normal intake of vitamin (31). Mutations in this or other genes may, therefore, be important determinants of the serum response to dietary α -tocopherol.

However, we found a strong correlation ($r=0.430$) between intake of energy from saturated fat and adjusted-serum α -tocopherol, specially in rural adolescents. This suggest an important association between serum α -tocopherol levels and palm shortening intake, because this food is the primary contributor of saturated fat in the Costa Rican adolescents' diet (32). This observation is not compatible with observations by El-Soheby et al. in a study with Costa Rican adults (30). They no found association between plasma α -tocopherol levels and the type of fat (soy-bean oil, corn oil or palm shortening) used for cooking and frying at home. The differences between both studies reinforce the evidence that serum α -tocopherol, unlike γ -tocopherol, does not adequately reflect intake from food sources (33).

Given that palm shortening contains 6 more α -tocopherol/100 g than soy-bean oil (21.6mg and 16 mg, respectively) (34), the higher palm shortening intake in rural areas explains our results. Unfortunately, palm shortening is an important contributor of atherogenic palmitic acid (C16: 0) (35). Although palmitic acid exerts a lower effect on the plasma lipids than miristic acid (C14: 0) and lauric acid (C12: 0) (35), the reduced intake of this saturated fatty acid has resulted in a reduction in plasma LDL-cholesterol levels in well-controlled dietary studies (36).

Recent results from subgroup analysis of the Cholesterol Lowering Atherosclerosis study (CLAS) and other studies suggest that high vitamin E intake could inhibit lesion progression (7,37,38). Therefore, it is wise to ensure an adequate intake of α -tocopherol beginning in adolescence because it could have important public health benefits. It appears important, since according to current vitamin E dietary reference intake (15 mg/d), over 25% of adolescents showed an inadequate intake of this antioxidant. However; the α -tocopherol food contributors should receive special attention in order to reduce the atherogenic characteristics in the adolescents' diet. The goal of adequate vitamin E intake should be achieved by minimizing saturated vegetable fat intake and replacing it with unsaturated vegetable fat as has been suggested by the Hohenheimer Consensus Meeting (39). In addition, although diet alone does not provide the levels

of vitamin E intake associated with the lowest risk for cardiovascular disease, the absence of efficacy and safety data from randomized trials precludes vitamin E supplementation (36).

Correcting suboptimal α -tocopherol intake is a true preventive measure for CHD development in healthy people (4); however an increase in the intake of α -tocopherol cannot compensate for the effect of an atherogenic diet or excess weight. Bieri et al. (40) have suggested that sequestration of α -tocopherol in adipose tissue of obese subjects may limit its availability to other tissues, resulting in lower adjusted α -tocopherol serum levels. This relationship was confirmed in this study; for each unit of increase on the BMI, the adjusted-vitamin E levels will diminish 0.189 μ mol/mmol.

Low adjusted-serum α -tocopherol levels may contribute to the increased risk of cardiovascular disease associated with obesity. Strauss (41) has suggested that modestly decreased levels of α -tocopherol in obese adolescents may be of sufficient magnitude to affect lipid oxidation. This is worrisome, as 12% of the adolescents studied presented overweight. In addition, 36% of these adolescents presented levels of total cholesterol higher than 4.4mmol/L (data not shown). High concentration of candidate target molecules for lipid peroxidation combined with reduced availability of the most important lipid-soluble antioxidant may be one of the many factors predisposing overweight adolescents to a high risk for the development of atherosclerosis later in life (17).

Our results suggest that vitamin E intake should be promoted in adolescents. However, it should be encouraged as a combination of strategies aimed at developing a healthy lifestyle, with particular emphasis on reducing the saturated fat intake and the incidence of obesity to reduce health risks in later life.

REFERENCES

1. Berenson G, Srinivasan S, Nicklas T. Atherosclerosis: A nutritional disease of childhood. *Am J Cardiol* 1998; 82: 22T-29T.
2. Hegsted DM, Ausman L, Johnson J, Dallal G. Dietary fat and serum lipids: an evaluation of the experimental data. *Am J Clin Nutr* 1993; 57: 875-883
3. Hayes KC, Khosla P. Dietary fatty acid thresholds and cholesterolemia. *Faseb J* 1992;6: 2600-2607.
4. Tribbe D. Antioxidant consumption and risk of coronary heart disease: emphasis on vitamin C, vitamin E and β -carotene. A statement for healthcare professionals from the American Heart Association. *Circulation* 1999;99: 591-595.
5. Krebt P, Reunanen A, Jarvinen R, Seppanen R, Heliovaara M, Aromaa A. Antioxidant vitamin intake and coronary mortality in a longitudinal population study. *Am J Epidemiol* 1994; 139: 1180-1189.

6. Machlin L. Critical assessment of the epidemiological data concerning the impact of antioxidant nutrients on cancer and cardiovascular disease. *Food Sci Nutr* 1995; 35: 41-50.
7. Meydani M. Vitamin E and atherosclerosis: Beyond prevention of LDL oxidation. *J Nutr* 2001; 131: 366S-368S.
8. Evstigneeva RP, Volkov IM, Chudinova VV. Vitamin E as a universal antioxidant and stabilizer of biological membranes. *Membr Cell Biol* 1998; 12: 151-172.
9. Sakuma N, Yosikawa M, Hibino T, Okada M, Jinno Y, Tamai N, et al. Alpha-tocopherol protects the peroxidative modification of LDL to be recognized by LDL receptors. *J Nutr Sci Vitaminol Tokyo* 1998; 44: 697-703.
10. Chan AC. Vitamin E and Atherosclerosis. *J Nutr* 1998; 128: 1593-1596.
11. Azzi A, Boscoboinik D, Clement S, Marilley D, Ozer NK, Ricciarelli R, et al. Alpha-tocopherol as a modulator of smooth muscle cell proliferation. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 1997; 57: 507-514.
12. Devaraj S, Jialal I. The effects of alpha tocopherol on critical cells in atherogenesis. *Curr Opin Lipidol* 1998; 9: 11-15.
13. Liao J. Endothelium and acute coronary syndromes. *Clin Chem* 1998; 44: 1799-1808.
14. Azen SP, Qian D, Mack WJ, Sevanian A, Selzer RH, Liu CR, et al. Effect of supplementary antioxidant vitamin intake on carotid arterial wall intima-media thickness in a controlled clinical trial of cholesterol lowering. *Circulation* 1996; 94: 2369-2372.
15. Stampher MJ, Hennekens CH, Manson JE, Colditz GA, Rosner M, Willet WC. Vitamin E consumption and the risk of coronary heart disease in women. *N Engl J Med* 1993; 328: 1444-1449.
16. Rimm EB, Stampher MJ, Ascherio A, Giovannucci E, Colditz GA, Willet WC. Vitamin E consumption and the risk of coronary heart disease in men. *N Engl J Med* 1993; 328: 1450-1456.
17. Decsi T, Molnár D, Koletzko B. Reduced plasma concentrations of alpha-tocopherol and beta-carotene in obese boys. *J Pediatr* 1997; 130: 653-655.
18. McGill H, McMahan A, PDAY Research Group. Determinants of atherosclerosis in the young. *Am J Cardiol* 1998; 82: 30T-36T.
19. Berenson G, Wattigney W, Bao W, Srinivasan S, Radhakrishnamurthy B. Rationale to study the early natural history of heart disease: The Bogalusa Heart Study. *Am J Med Sci* 1995; 310: S22-S28.
20. Morice A. Análisis de la situación de las enfermedades crónicas no transmisibles en Costa Rica, Tres Ríos: INCIENSA, 1998.
21. Beiri JG, Tolliver JT, Catigman G. Simultaneous determination of tocopherol and retinol in plasma or red cells by High Pressure Liquid Chromatography. *Am J Clin Nutr* 1979; 32: 2143-2149.
22. Horwitt MK, Harvey CC, Dahm CH, Scarcy MT. Relationship between tocopherol and serum lipid levels for determination of nutritional adequacy. *Ann NY Acad Sci* 1972; 203: 203-236.
23. Thurman DI, Davies JA, Crump BJ, Situnajake RD, Davis M. The use of different lipids to express serum tocopherol: lipid ratio for measurement of vitamin E status. *Ann Clin Biochem* 1986; 23: 514-520.
24. Araúz AG. Método de registro de alimentos de tres días. In: Madrigal H, Martínez H, eds. *Manual de encuestas de dieta*. México: Instituto Nacional de Salud Pública 1996; 83-98.
25. Monsen E. Dietary reference intakes for the antioxidant nutrients: vitamin C, vitamin E, selenium and carotenoids. *J Am Diet Assoc* 2000; 100: 637-640.
26. World Health Organization. *Physical status: the use and interpretation of anthropometry*. WHO technical report series. 854. Switzerland: WHO; 1995.
27. Haffner SM, Miettinen H, Stern MP, Agil A, Jialal Y. Plasma oxidizability in Mexican-Americans and Non-Hispanic whites. *Metabolism* 1996; 45: 876-81.
28. Kardinaal AFM, van't Veer P, Bramts HAM, van den Berg H, van Schoonhoven J, Hermus RJJ. Relation between antioxidant vitamins in adipose tissue, plasma, and diet. *Am J Epidemiol* 1995; 141: 440-450.
29. Ascherio A, Stampher MJ, Colditz GA, Rimm EB, Litin L, Willet WC. Correlations of vitamin A and E intakes with the plasma concentration of carotenoids and tocopherols among American men and women. *J Nutr* 1992; 122: 1792-1801.
30. Eh-Soheemy A, Baylin A, Ascherio A, Kabagambe E, Spiegelman D, Campos H. Population-based study of α - and γ -tocopherol in plasma and adipose tissue as a biomarker of intake in Costa Rican adults. *Am J Clin Nutr* 2001; 74: 356-363.
31. Cavalier L, Ouahchi K, Kayden HJ, DiDonato S, Reutenauer L, Mandel JL, et al. Ataxia with isolated vitamin E deficiency: heterogeneity of mutations and phenotypic variability in a large number of families. *Am J Hum Genet* 1998; 62: 301-310.
32. Monge-Rojas R. Dietary intake as a cardiovascular risk factor in Costa Rican adolescents. *J Adolesc Health* 2000; 28: 228-337.
33. Dimitrov NV, Meyer C, Gilliland D, Ruppenthal M, Chenoweth W, Malone W. Plasma tocopherol concentration in response to supplemental vitamin E. *Am J Clin Nutr* 1991; 53: 723-729.
34. Cotrell R. Nutritional aspects of Palm oil. *Am J Clin Nutr* 1991; 53: 989S-1009S.
35. Hayes KC, Pronczuk A, Lindsey S, Diersen-Schade D. Dietary saturated fatty acids (12:0, 14:0, 16:0) differ in their impact on plasma cholesterol and lipoproteins in non human primates. *Am J Clin Nutr* 1991; 53: 491-498.
36. Kraus R, Eckel R, Howard B, Appel LJ, Daniels SR, Deckelbaum RJ, et al. AHA dietary guidelines for healthy American adults. Revision 2000: A statement for health professionals from the Nutrition Committee American Heart Association. *Circulation* 2000; 102: 2284-2299.
37. Azen SP, Qian D, Mack WJ, Sevanian A, Selzer RH, Lui CR, et al. Effect of supplementary antioxidant vitamin intake on carotid arterial wall intima-media thickness in a controlled clinical trial of cholesterol lowering. *Circulation* 1996; 94: 2369-2372.
38. Hodis HN, Mack WJ, LaBree L, Cashin-Hemphill L, Sevanian A, Johnson R, et al. Serial coronary angiographic evidence

- that antioxidant vitamin intake reduces progression of coronary artery atherosclerosis. *JAMA* 1995; 273: 1849-1854.
39. Biesalski HK, Bohler H, Esterbauer H, Furst P, Hundsdorfer G, Kasper H, et al. Antioxidant vitamins in prevention. *J Clin Nutr* 1997; 16: 151-155.
40. Bieri JG, Poukla E, Vart R. Effect of plasma lipids levels and obesity on tissue stores of a-tocopherol. *Proc Soc Exp Biol Med* 1975; 149: 500-2.
41. Strauss R. Comparison of serum concentrations of α -tocopherol and β -carotene in a cross-sectional sample of obese and nonobese children (NHANES III). *J Pediatr* 1999, 134:160-5.

Recibido: 12-12-2000

Aceptado: 08-08-2002

Comparación de los resultados de dos métodos de encuestas alimentarias

Carmen Urteaga Ribbeck, Anna Christina Pinheiro Fernandes, Eduardo Atalah Samur

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

RESUMEN. El objetivo de este estudio fue comparar los resultados alimentario-nutricionales obtenidos por medio de una encuesta de recordatorio del día anterior (ERDA) y otra de tendencia de consumo (ETC) en la misma población. Se aplicaron ambas encuestas simultáneamente en 264 escolares y 272 adultos pertenecientes a tres ciudades de Chile: Santiago, Antofagasta y Temuco. Se determinó edad, sexo, escolaridad, ocupación, previsión del jefe de familia, peso y talla (IMC). El consumo de porciones de alimentos y de nutrientes fue comparado utilizándose promedios, desviación estándar (DE), ANOVA y correlación de Pearson. Los resultados indicaron que no hubo diferencias significativas entre ambas encuestas en el consumo promedio de cereales, frutas, carnes y azúcar. El consumo de lácteos y aceites fue mayor según ETC: $0,6 \pm 1,7$ y $0,3 \pm 0,9$ porciones respectivamente ($p < 0,01$). En nutrientes no hubo diferencias significativas para β -caroteno, vitaminas A, C, hierro y zinc. Las diferencias promedio en energía y nutrientes fueron menores al 10% del consumo salvo en ácidos grasos omega-3, colesterol, vitamina E y folatos. Los coeficientes de correlación entre las dos encuestas fueron $\leq 0,4$ para la mayor parte de los nutrientes y alimentos. En adultos se encontraron correlaciones cercanas a 0,5 para cereales, lácteos y azúcar. Nuestras conclusiones indican que ambas encuestas entregan resultados similares a nivel poblacional, pero con diferencias significativas cuando la unidad de análisis es la persona. El método más adecuado dependerá fundamentalmente de los objetivos del estudio.

Palabras clave: Encuestas alimentarias, comparación, tendencia de consumo, recordatorio 24 horas, nutrición, Chile.

SUMMARY. Comparison of results from two dietary interview methods. The objective of this study was to compare the food consumption and nutrient intakes obtained through a 24-h dietary recall (DR) and a consumption tendency interview (CTI). Both instruments DR and CTI were applied simultaneously in groups of 264 schoolchildren and 272 adults. Information on age, sex, literacy, occupation, and head of family's social security system was also obtained. Body weight and height were measured and the body mass index BMI was calculated. Food portions and nutrient intakes were described and compared by using means, standard deviation, ANOVA, and product moment Pearson's correlation. No significant differences were detected between both methods with respect to mean consumption of cereals, fruits, meats and sugars. Dairy products and oil consumption were found to be larger according to CTI: $0,6 \pm 1,7$ y $0,3 \pm 0,9$ portions, respectively ($p < 0,01$). In terms of nutrient intakes, there were no differences in β -carotene, vitamin A, vitamin C, iron, and zinc. Mean differences of energy and selected nutrients were lower than 10% of total intake, except by omega-3 fatty acid, cholesterol, vitamin E, and folate. Correlation coefficient between both methods was $< 0,4$ for most foods and nutrient intakes. Correlation was slightly higher in adults regarding cereals dairy and sugar ($\approx 0,5$). Both methods DR and CTI produce similar results when applied at the population level, but can be significant different on individuals. The suitability of each method will depend on the objectives of the study.

Key words: Dietary assessment, comparison, food frequency, 24 h recall, nutrition, Chile.

INTRODUCCION

Cada día cobra más importancia la necesidad de disponer información sobre el consumo de alimentos y los patrones alimentarios de la población por su asociación con diferentes enfermedades crónicas no transmisibles (1). La metodología habitualmente utilizada con este fin es aplicar alguna encuesta alimentaria, aunque ellas son fuertemente cuestionadas por la confiabilidad de las mediciones o por la baja reproducibilidad o precisión de los diversos métodos (2-4).

Las encuestas más utilizadas en Chile son las que emplean la técnica de interrogatorio, ya sea de Recordatorio de 24 horas o de Tendencia de Consumo de Alimentos (5,6). En la literatura se describe que una encuesta de R24H provee mejor

información a nivel poblacional que a nivel individual (7). La encuesta de tendencia ha sido utilizada en Chile desde la década del 60, a pesar de que nunca fue validada por la complejidad que exige este procedimiento (8-12). Ambas encuestas tienen la ventaja de ser relativamente fáciles de realizar por profesionales entrenados. En ellas, la precisión está determinada principalmente por la capacidad de los individuos en recordar su ingesta y en la del entrevistador en hacerla recordar (2), no existiendo consenso sobre las ventajas de una sobre otra.

La confiabilidad de la información alimentaria se puede determinar comparando los resultados obtenidos por distintos métodos. La encuesta alimentaria por pesada ha sido considerada como un estándar oro por ser la más exacta en

la medición del consumo alimentario (13). Analizando los resultados obtenidos a través de una encuesta de recordatorio y una encuesta por pesada, Bingham (14) constató valores muy similares. Un estudio realizado en Inglaterra en personas adultas encontró que el coeficiente de correlación entre la encuesta de 24 horas y un cuestionario de frecuencia de 65 ítemes era bajo, fluctuando entre 0,2 y 0,4 para los diferentes alimentos y nutrientes (15,16).

No existen en Chile estudios que cotejen los resultados de diferentes encuestas alimentarias. El propósito de este estudio es comparar los resultados alimentario-nutricionales obtenidos a través de una encuesta de Recordatorio de 24 horas y de Tendencia Consumo Cuantificada aplicadas al mismo tiempo en escolares y adultos. Sus resultados pueden contribuir a definir mejor el uso y aplicación de estas encuestas en nuestro medio.

MATERIAL Y METODO

La población estudiada incluyó una muestra representativa de 264 escolares y 272 adultos de tres ciudades (Santiago, Antofagasta y Temuco) seleccionados en un proyecto orientado a evaluar la exposición humana a arsénico (17). Para determinar la muestra de adultos fueron

identificadas las empresas afiliadas a la Asociación Chilena de Seguridad (ACHS) en las cuales hubiera más de 10 afiliados. Por medio de un sorteo aleatorio fueron seleccionadas 10 empresas en Antofagasta y Temuco y 16 en Santiago, sorteándose 7 personas en cada una de ellas. Para establecer la muestra de los escolares fueron identificados los colegios municipalizados y particular subvencionados que registraran existencia del 8° año básico, sorteándose aleatoriamente 10 escuelas en Temuco y Antofagasta y 20 en Santiago. En cada escuela fueron identificados 7 niños en Antofagasta y Temuco y 5 a 6 en Santiago.

A cada participante se aplicó una encuesta recordatorio del día anterior y luego una encuesta de tendencia de consumo cuantificada, en los respectivos lugares de trabajo o estudio. En la Tabla 1 se puede apreciar un extracto de la encuesta de tendencia utilizada.

Ambas encuestas fueron realizadas por nutricionistas previamente entrenadas. Las sesiones de estandarización fueron realizadas en cada ciudad y estuvieron orientadas a mejorar la calidad de la información con énfasis en el uso correcto del instrumento. Las encuestas fueron realizadas con el apoyo de material fotográfico que representaba utensilios domésticos de uso habitual en la alimentación (distintos tipos de platos, tazas y cucharas).

TABLA 1
Extracto de la encuesta de tendencia de consumo de alimentos

Alimentos	Frecuencia	Cantidad por vez		Cantidad termino medio día	Observaciones
		medida casera	g/cc		
Leche					
polvo:					
líquida:					
Yogurt					
Postres leche					
Queso					
Quesillo					
Queso chacra					
Frutas:					
kiwi					
manzana					
naranja					
palta					
pera					
plátano					
otras					
Frutas desecadas					
Frutas en conserva					

Se obtuvo información sobre edad, sexo, escolaridad, ocupación y previsión del jefe de la familia. Cada uno de los encuestados fue medido y pesado en condiciones estandarizadas y se calculó el Índice de Masa Corporal (IMC). En escolares se utilizaron las tablas del CDC/NCHS según edad y sexo, considerando normales los valores entre el percentil 10 y el 84, sobrepeso entre p 85 y 94 y obesidad \geq p 95 (18). En adultos se consideró normal un IMC entre 18,5 y 24,9, sobrepeso entre 25 y 29,9 y obesidad $\geq 30,0$ kg/m² (19).

Los datos fueron traspasados a una planilla ACCESS, la que fue rigurosamente revisada con el objetivo de pesquisar posibles errores de digitación. Para procesar la información alimentaria se utilizó el programa computacional Sofnut Ltda. Versión 2002 (20) el cual calcula el aporte de energía, fibra, lípidos, ácidos grasos, colesterol, vitaminas A, E, C, β caroteno, ácido fólico, selenio, zinc, calcio y hierro a partir de una base de datos creada con información tanto nacional como internacional. Además permite agrupar los alimentos de acuerdo a las recomendaciones de la Pirámide Alimentaria Chilena (21). Para la adecuación de nutrientes se utilizó las recomendaciones de la Academia Nacional de Ciencias de EEUU. La adecuación del consumo de alimentos fue realizada basándose en las porciones recomendadas según sexo y edad de la Pirámide Alimentaria Chilena (22-24).

El análisis estadístico se realizó con el programa SPSS 10.0 (25). Para cada grupo de alimentos y nutriente se calculó el consumo promedio y desviación estándar (DE) según cada encuesta. Se calculó además la diferencia promedio \pm DE entre los valores individuales de cada encuesta. Para comparar entre los resultados de ambas encuestas se utilizó análisis de varianza (ANOVA) y para muestras independientes la prueba t de Student. Para verificar el grado de correlación entre los resultados de las dos encuestas (CTCA y R24H) se aplicó la prueba de correlación de Pearson. En todos los casos se consideró estadísticamente significativo una diferencia con un $p < 0,05$.

RESULTADOS

La muestra estuvo formada por una proporción similar de hombres y mujeres. La edad promedio en los escolares fue $13,4 \pm 0,7$ años y en adultos $35,0 \pm 10,6$ años. La mayor parte de las personas residía en la ciudad de Santiago (46,7%) y los demás se repartían en iguales proporciones en las ciudades de Antofagasta y Temuco. En el grupo de los escolares, el 56% de los jefes de familia había completado la enseñanza media o el nivel técnico universitario (Tabla 2), proporción que aumentó a un 71,2% en los adultos activos. El 31,8 y 42,6% de la muestra de escolares y adultos respectivamente, presentaba algún grado de sobrepeso u obesidad según el IMC.

TABLA 2
Características generales de la población estudiada.

Variable	Escolares n = 264	Adultos n = 272
Escolaridad jefe de familia	%	%
Técnico o universitario	20,8	28,4
Enseñanza media	52,2	52,0
Enseñanza básica	25,8	17,4
Sin educación formal	0,8	2,2
Previsión		
Sistema público FONASA	50,0	53,1
Sistema privado	25,7	39,9
Sin previsión	11,7	6,6
Estado Nutricional		
Bajo peso	9,1	0,8
Normal	44,3	45,8
Sobrepeso	25,8	39,9
Obesidad	20,8	14,4

Al comparar el número de porciones de alimentos consumidas según los dos tipos de encuestas, no se encontraron diferencias significativas en cereales, frutas, carnes y azúcares (Tabla 3). En cambio el consumo de lácteos y aceites fue mayor según la encuesta de tendencia en $0,6 \pm 1,7$ y $0,3 \pm 0,9$ porciones respectivamente ($p < 0,01$). Aún cuando las diferencias promedios son relativamente pequeñas, destaca la amplitud de las desviaciones estándares lo que refleja un comportamiento muy heterogéneo. En alimentos no se encontraron diferencias significativas según IMC.

TABLA 3
Consumo promedio de porciones de alimentos según ambas encuestas

Grupo de alimentos	R24H X \pm DE	CTCA X \pm DE	Diferencia * X \pm DE	p
Cereales	$6,3 \pm 3,4$	$6,2 \pm 3,3$	$-0,1 \pm 3,9$	NS
Verduras	$1,4 \pm 1,4$	$1,1 \pm 1,0$	$-0,3 \pm 1,7$	$< 0,01$
Frutas	$0,9 \pm 1,4$	$1,1 \pm 1,2$	$0,2 \pm 1,9$	NS
Carnes	$2,0 \pm 1,5$	$2,1 \pm 1,0$	$0,1 \pm 1,6$	NS
Lácteos	$0,9 \pm 1,4$	$1,5 \pm 1,4$	$0,6 \pm 1,7$	$< 0,01$
Aceites	$1,0 \pm 0,8$	$1,3 \pm 0,7$	$0,3 \pm 0,9$	$< 0,01$
Azúcares	$10,8 \pm 7,2$	$11,2 \pm 7,5$	$0,4 \pm 8,4$	NS

* Tendencia - Recordatorio

Al determinar la adecuación del consumo de porciones a las recomendaciones, se evidencia el bajo consumo de verduras, frutas y lácteos en los dos tipos de encuestas aplicadas (Tabla 4). En verduras y frutas menos del 15% de la población estudiada presenta una adecuación $\geq 75,0\%$ al

ser evaluado a través de ambas encuestas. Para los lácteos la proporción con consumo $\geq 75\%$ de las porciones recomendadas alcanza a 25% según la encuesta de tendencia y desciende a 15% cuando se aplica el R24H

TABLA 4

Adecuación promedio a las recomendaciones del consumo de porciones-pirámide en las dos encuestas (%)

Grupos	Escolares		Adultos	
	R24H (% X \pm DE)	CTCA (% X \pm DE)	R24H (% X \pm DE)	CTCA (% X \pm DE)
Cereales	90,6 \pm 48,9	83,9 \pm 42,1	80,9 \pm 44,7	84,8 \pm 47,8 \ddagger
Verduras	37,9 \pm 38,4	29,0 \pm 30,0 \ddagger	39,38 \pm 40,0	33,2 \pm 28,0
Frutas	32,1 \pm 47,5	35,0 \pm 39,7	27,1 \pm 45,5	34,0 \pm 39,4 \ddagger
Lácteos	32,2 \pm 42,8	48,6 \pm 41,2	30,9 \pm 49,4	55,5 \pm 54,3 \ddagger
Carnes	82,6 \pm 59,7	92,9 \pm 43,5	93,3 \pm 70,6	91,4 \pm 47,5 \ddagger
Aceites	64,9 \pm 54,9	84,8 \pm 41,3	49,9 \pm 39,3	65,6 \pm 33,8 \ddagger

\ddagger Tendencia - Recordatorio ($p < 0,05$)

En la mayoría de los nutrientes se encontraron diferencias significativas entre las dos encuestas, con excepción del β -caroteno, vitamina A total, vitamina C, hierro y zinc. Las diferencias promedio en energía y nutrientes fueron menores al 10% del consumo, salvo en ácidos grasos ω 3, colesterol, vitamina E y folatos (Tablas 5 y 6).

TABLA 5

Consumo promedio de macronutrientes según los dos tipos de encuestas

Nutriente	R24H X \pm DE	CTCA X \pm DE	Diferencia * X \pm DE	p
Calorías (Kcal)	1926 \pm 752	2028 \pm 713	102,5 \pm 872	< 0,01
Proteína (g)	66,6 \pm 26,9	71,6 \pm 26	5,0 \pm 33,0	< 0,01
Lípidos (g)	57,3 \pm 33,2	60,9 \pm 23,8	3,5 \pm 37,0	0,05
AGS (g)	17,0 \pm 12,7	19,0 \pm 8,9	2,0 \pm 14,3	< 0,01
AGMI (g)	18,1 \pm 13,6	19,5 \pm 8,4	1,4 \pm 14,7	0,05
AGPI (g)	13,4 \pm 8,4	17,4 \pm 7,3	4,0 \pm 10,0	< 0,01
AG ω 6 (g)	6,4 \pm 5,6	10,2 \pm 5,5	3,8 \pm 7,5	< 0,01
AG ω 3 (g)	0,1 \pm 0,3	0,5 \pm 0,6	0,4 \pm 0,6	< 0,01
Colesterol (mg)	153,6 \pm 166,3	193,5 \pm 114,6	40,0 \pm 183,7	< 0,01

* Tendencia - Recordatorio

La ingesta promedio de nutrientes se encuentra cercana o supera las recomendaciones para proteínas, vitamina A, folatos, hierro y selenio en ambos grupos según los dos tipos de encuestas. Calcio y zinc presentan los niveles más críticos de adecuación y en menor proporción vitamina C, vitamina E y energía (Tabla 7).

TABLA 6

Consumo promedio de fibra, vitaminas y minerales según los dos tipos de encuestas

Nutriente X \pm DE	R24H X \pm DE	CTCA X \pm DE	Diferencia * X \pm DE	p
Fibra (g)	17,8 \pm 9,1	19,1 \pm 9,6	1,3 \pm 12,1	0,01
β -caroteno	299 \pm 457	275 \pm 299	-24 \pm 520	NS
Vitamina A (ER)	595 \pm 1006	624 \pm 460	-29 \pm 1078	NS
Vitamina C (mg)	46,4 \pm 59,9	42,3 \pm 46,4	-4,0 \pm 74,1	NS
Vitamina E (mg)	9,9 \pm 7,2	12,4 \pm 5,7	2,5 \pm 8,6	< 0,01
Folatos (mcg)	183 \pm 122	206 \pm 97	23 \pm 146	< 0,01
Calcio (mg)	404 \pm 269	430 \pm 294	126 \pm 347	< 0,01
Hierro (mg)	14,3 \pm 6,8	14,0 \pm 5,6	-0,2 \pm 7,5	NS
Selenio (mcg)	88,1 \pm 48,0	94,8 \pm 47,4	6,7 \pm 59,2	< 0,01
Zinc (mg)	5,4 \pm 2,9	5,2 \pm 2,2	-1,7 \pm 3,5	NS

* Tendencia - Recordatorio

TABLA 7

Adecuación promedio del consumo de nutrientes a las recomendaciones en las dos encuestas

Nutriente	Escolares		Adultos	
	R24H (X \pm DE)	CTCA (X \pm DE)	R24H (X \pm DE)	CTCA (X \pm DE)
Energía	88,1 \pm 34,7	90,58 \pm 29,8	81,2 \pm 34,1	87,9 \pm 36,6 \ddagger
Proteínas	106,4 \pm 41,2	114,8 \pm 38,8 \ddagger	109,6 \pm 46,8	118,4 \pm 51,4 \ddagger
Vitamina A	91,3 \pm 177,6	92,2 \pm 69,1	76,7 \pm 127,2	82,2 \pm 62,7
Vitamina C	83,5 \pm 91,4	71,7 \pm 78,6 \ddagger	61,9 \pm 85,1	59,2 \pm 65,8
Vitamina E	84,3 \pm 63,4	102,3 \pm 45,2 \ddagger	63,9 \pm 44,4	83,1 \pm 40,2 \ddagger
Folatos	196,1 \pm 108,0	204,1 \pm 99,2 \ddagger	161,4 \pm 76,6	172,6 \pm 96,4 \ddagger
Calcio	33,6 \pm 22,0	44,1 \pm 23,6	36,3 \pm 24,2	47,8 \pm 26,8 \ddagger
Hierro	157,4 \pm 83,0	153,0 \pm 64,2	136,2 \pm 86,8	136,0 \pm 80,0
Selenio	196,9 \pm 111,3	214,9 \pm 111,5 \ddagger	162,8 \pm 89,7	173,4 \pm 88,0
Zinc	63,0 \pm 34,7	62,2 \pm 25,2	57,4 \pm 32,6	54,5 \pm 25,6

\ddagger Tendencia - Recordatorio ($p < 0,05$)

Los coeficientes de correlación entre las dos encuestas fueron bajos tanto en nutrientes como alimentos, fluctuando entre 0,05 y 0,4. En alimentos la mayor correlación se encontró para azúcar (0,4), cereales y lácteos (0,3) y en nutrientes para calorías, hierro y calcio (0,3).

DISCUSION

En nutrición humana, uno de los aspectos más controvertidos y de difícil medición es la alimentación, principalmente por la enorme variabilidad intraindividual que existe en el consumo. Sin embargo, hasta el momento las encuestas alimentarias son el único método factible para la medición del consumo de alimentos en la población. No así para nutrientes, en que se pueden utilizar biomarcadores plasmáticos, pero que son de elevado costo y necesitan de personal altamente especializado para su ejecución (26).

Todos los métodos utilizados para evaluar la alimentación presentan ventajas y desventaja que son inherentes a cada técnica, las que están ampliamente descritas en la literatura (27). El método de R24H recoge la información alimentaria del día anterior a la entrevista. Los diversos estudios informan que este método tiende a subestimar la alimentación del individuo al ser aplicado en una sola oportunidad y la varianza intraindividual puede cambiar de acuerdo al nutriente estudiado. A su vez, la encuesta de tendencia de consumo considera habitualmente la ingesta del último mes y puede sobrestimar el consumo debido a la dificultad de ubicar en el tiempo el hábito alimentario individual y a la imprecisión de los encuestadores al averiguar las frecuencias de consumo.

Los estudios de validación de los resultados de encuestas alimentarias utilizados en el European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) (15,16) arrojan interesantes cifras de correlación entre los diferentes métodos utilizados en los países participantes. Se compararon 12 encuestas de recordatorio con una encuesta de tendencia encontrándose correlaciones con una variación entre 0,2 y 0,7 para los distintos grupos de alimentos. Nuestros resultados registran bajas correlaciones, las que no superan a 0,4. Al analizar los datos separadamente en escolares y adultos, las correlaciones para cereales, lácteos y azúcares son un poco mayores en adultos (cerca a 0,5), lo que sugiere patrones de consumo más estables en este grupo.

Desde un punto de vista estadístico, los resultados indican que hay diferencias significativas entre ambas encuestas para la mayoría de los nutrientes y bajos coeficientes de correlación, lo que permitiría deducir que no son equivalentes. Sin embargo, desde un punto de vista de salud pública, las diferencias promedio entre ellas son relativamente pequeñas no cambian sustancialmente la interpretación de los datos (28). La mayor diferencia se observó en productos lácteos (equivalente a media taza de leche), lo que significa un consumo de menos del 20% de las porciones recomendadas en el grupo estudiado. En el caso de las verduras la diferencia equivale a 1/3 de taza, cantidad poco relevante desde un punto de vista práctico.

Para la mayor parte de los nutrientes los consumos fueron mayores en la encuesta de tendencia de consumo, lo que sugiere una sobrestimación de este método, como ha sido descrito en la literatura. Sin embargo para los nutrientes con baja frecuencia de consumo, es probable que entregue una información más cercana a la realidad. Es el caso de los ácidos grasos $\omega 3$, en que la relación encontrada entre ambas encuestas fue 5:1. Esto podría estar indicando que el consumo de pescado, el principal alimento aportador de $\omega 3$, es esporádico (quincenal o mensual) y por lo tanto tiene una baja representación en una encuesta de recordatorio.

Podemos concluir que ambas encuestas entregan resultados bastante similares cuando se analizan a nivel

poblacional, pero con diferencias significativas cuando la unidad de análisis es la persona. Las diferencias a nivel personal son mayores para aquellos alimentos y nutrientes de consumo esporádico. Si el objetivo de la encuesta fuera describir la alimentación de un grupo de personas, podría ser indiferente el tipo de encuesta utilizada. Si el objetivo es más bien analizar el consumo de algunos nutrientes específicos a nivel individual, la elección debiera ser una encuesta de tendencia o varias encuestas de recordatorio de 24 horas. El método más adecuado dependerá entonces fundamentalmente de los objetivos del estudio. En Chile no se han publicado estudios relacionados con validación de encuestas alimentarias, por lo tanto, la comparación de los resultados obtenidos por 2 métodos es un aporte valioso.

REFERENCIAS

1. Vio F, Castillo C. Diagnóstico de la situación nutricional en Chile. En: Guías de Alimentación para la población Chilena. Ed: Castillo C, Uauy R., Atalah E. Imprenta Diario La Nación 1997.
2. Rebolledo A. Encuestas Alimentarias. Rev Chil Nutr 1998; 25: 28-34.
3. Gorgojo L, Martín Moreno JM. Cuestionario de Frecuencia de consumo alimentario. En: Nutrición y Salud Pública. Métodos, bases científicas y aplicaciones. Ed. Serra López Vioque J. España 1997.
4. Serra Majem LL, Ribas Barba L. Recordatorio de 24 horas. En: Nutrición y Salud Pública. Métodos, bases científicas y aplicaciones. Ed. Serra López Vioque J. España 1997.
5. Durán E, Soto D, Asenjo G, Pradenas F, Quiróz V. Evaluación de la dieta de embarazadas de área urbana y su relación con el estado nutricional. Rev Chil Nutr Vol 1999;26 (1): 62-69.
6. Urteaga C, Ramos R, Atalah E. Validación del criterio de evaluación nutricional global del adulto mayor. Rev Med Chile 2001;129: 871-876.
7. Kubena KS. Accuracy in dietary assessment: On the road to good science. J Am Diet Ass 2000;100 (7):775-776 .
8. Atalah E, Urteaga C, Rebolledo A, Delfín S, Ramos R. Patrones alimentarios y de actividad física en escolares de la Región de Aysén. Rev Chil Pediatr 1999;70:483-490.
9. Atalah,E, Urteaga C, Rebolledo A, Medina E, Csendes J. Factores de riesgo del cáncer de mama en mujeres de Santiago. Rev Med Chile; 2000; 128: 137-143.
10. Atalah E, Urteaga C, Rebolledo A, Villegas R, Medina E, Csendes J. Alimentación tabaquismo e historia reproductiva como factores de riesgo del cáncer del cuello del útero. Rev Med Chile; 2001; 129 (6): 597-603.
11. Yañez R, Olivares S, Torres I, Guevara M, Díaz N. Consumo de alimentos de escolares chilenos. Su relación con las Guías Alimentarias y la Pirámide Alimentaria. Rev Chil Nutr; 2001; 28 (3): 422-428.
12. Atalah,E, Urteaga C, Rebolledo A. Consumo de alimentos aportadores de antioxidantes naturales en adultos. Rev Chil Nutr 1995; 23 (1): 34-41.

13. Aranceta J, Pérez C. Diario o registro dietético. Métodos de doble pesada. En: Nutrición y Salud Pública. Métodos, bases científicas y aplicaciones. Ed. Serra López Vioque J. España 1997.
14. Bingham S, Gill C, Welch A, Day K. Comparison of Dietary Methods in Nutritional Epidemiology: weighed records v. 24 h recalls, food-frequency questionnaires and estimated- diet records. *British Journal of Nutrition* 1994; 72: 619-643.
15. Kaaks R, Slimani N, Riboli E. Pilot phase studies on the accuracy of dietary intake measurements in the EPIC project: overall evaluation of results. *European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. Int J Epidemiol.* 1997;26: 26S-36S.
16. Kaaks R, Riboli E. Validation and calibration of dietary intake measurements in the EPIC project: methodological considerations. *European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. Int J Epidemiol.* 1997;26: 15S-25S.
17. Comisión Nacional del Medio Ambiente, CONAMA. Análisis de exposición humana a arsénico en grandes ciudades. Estudio n° 21-0022-002. Informe de avance. Escuela de salud Pública. Facultad de Medicina. Universidad de Chile. Diciembre, 2000.
18. Normas para la evaluación nutricional del niño entre 6 y 18 años. Informe técnico. Unidad de Nutrición. MINSAL. Noviembre, 2001.
19. OMS. " Obesity. Preventing and Managing. The Global Epidemic". Report of a WHO Consultation on Obesity. Geneva, 3-5 June 1997.
20. Pinheiro AC, Fuentes L A. Sofnut versión 2002. Software de análisis alimentario nutricional. Sofmática Ltda Santiago, Chile.
21. Jury G, Urteaga C, Taibo M. Porciones de Intercambio y Composición química de los alimentos de la Pirámide Chilena. Editorial: Lom Ediciones. 1997.
22. Institute of Medicine. DRI- Dietary Reference intake for Calcium, Phosphorus, Magnesium, Vitamina D and fluoride. Washington DC, 1997.
23. Institute of Medicine. DRI- Dietary Reference intake for Vitamin C, Vitamin E, Seleniun y Caroten. Washington DC, 2000.
24. Institute of Medicine. DRI- Dietary Reference intake for Tiamin, Riboflavin, Niacin, Vitamin B6, Folat, Vitamin B12, Pantotenic Acid, Biotin and Cholin. Washington DC, 1998.
25. SPSS for Windows 10.0.1 1999. SPSS Inc.
26. Bingham S, Day N. Using biochemical markers to assess the validity of prospective dietary assessment methods and effect of energy adjustment. *Am J Clin Nutr* 1997;65 (Suppl): 1130S-7S.
27. Gibson R. Principles of nutritional assessesmet. Oxford University Press, Nueva York, 1990.
28. Pinheiro AC. Aplicación del Índice de Alimentación Saludable en un grupo de escolares y adultos chilenos. Tesis para optar al grado de Magíster en Ciencias Biológicas mención Nutrición. Departamento de Nutrición. Facultad de Medicina. Universidad de Chile. Santiago, 2002.

Recibido: 29-10-2002

Aceptado: 06-05-2003

Efecto del nivel de calcio de la dieta consumida durante gestación y lactancia sobre el zinc en sangre y hueso, en ratas

Adriana Weisstaub, Susana Zeni, Patricia de Ferrer y María Luz de Portela

Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Hospital de Clínicas, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina

RESUMEN. Se estudió la influencia del nivel de calcio (Ca) de la dieta, durante preñez y lactancia, sobre el contenido materno de zinc (Zn) en hueso y en sangre. Ratas Wistar, hembras, entre 250 a 350 g de peso, se alimentaron desde el comienzo de la preñez hasta el destete con una dieta conteniendo/100 g: 0.2, 0.6 ó 0.9 g Ca (grupos BAJO, NORMAL y ALTO respectivamente). Al parto y al destete se determinó Zn en sangre (ZnS). Al destete se determinó en fémur Zn (ZnF) y Ca (CaF). Los resultados promedio \pm ESM fueron: para ZnS ($\mu\text{g/ml}$), al parto y al destete respectivamente: BAJO: 8.73 ± 1.05 ; 12.8 ± 2.02 ; NORMAL: 3.49 ± 0.19 ; 3.73 ± 0.37 ; ALTO: 3.21 ± 0.19 ; 3.85 ± 0.27 . Al destete para ZnF ($\mu\text{g}/100$ mg): BAJO: 30.2 ± 0.9 ; NORMAL: 24.1 ± 0.3 ; ALTO: 24.1 ± 0.9 ; CaF (mg/100 mg): BAJO: 19.2 ± 0.8 ; NORMAL: 21.4 ± 0.6 ; ALTO: 20.4 ± 1.1 . ZnS en BAJO fue estadísticamente mayor ($p < 0.0001$) a NORMAL y ALTO al parto y al destete. En BAJO, ZnF fue mayor y CaF menor a NORMAL y ALTO ($p < 0.0001$). ZnS, ZnF y CaF no mostraron diferencias entre NORMAL y ALTO. Estos resultados evidencian que durante gestación y lactancia no existió efecto negativo al incrementar en 50% el nivel de calcio de la dieta; el bajo aporte de calcio con zinc constante, aumentó tanto el contenido en fémur como los niveles sanguíneos de zinc.
Palabras clave: Calcio, zinc, gestación, lactancia, estado nutricional.

SUMMARY. Influence of dietary calcium during prenatal and lactation on zinc levels in maternal blood and bone, in rats. The effect of dietary calcium (Ca) level on maternal zinc (Zn) nutritional status was studied. Female Wistar rats, weighing 250-350 g, were fed during pregnancy and lactation with an experimental diet containing/100g different levels of calcium: 0.2 g (low calcium: LCa), 0.6 g (normal calcium: NCa) or 0.9 g (high calcium: HCa). Maternal blood samples were drawn from the tail at delivery and at the end of lactation. Laboratory determinations were: Zn in whole blood (WB) at delivery and weaning; Zn (ZnF) and Ca (CaF) in the ashed femur at weaning. The results (mean \pm SEM) were: ZnWB ($\mu\text{g/ml}$) at delivery and weaning: LCa: 8.73 ± 1.05 ; 12.8 ± 2.02 ; NCa: 3.49 ± 0.19 ; 3.73 ± 0.37 ; HCa: 3.21 ± 0.19 ; 3.85 ± 0.27 . CaF (mg/100 mg): LCa: 19.2 ± 0.8 ; NCa: 21.4 ± 0.6 ; HCa: 20.4 ± 1.1 . ZnF ($\mu\text{g}/100$ mg): LCa: 30.2 ± 0.9 ; NCa: 24.1 ± 0.3 ; HCa: 24.1 ± 0.9 . ZnWB was significantly higher in LCa ($p < 0.0001$) regarding NCa and HCa. ZnF showed an increase and CaF a decrease in LCa regarding NCa and HCa ($p < 0.0001$). There were no significant differences in ZnWB, ZnF and CaF between NCa and HCa. These results show that: there was no detrimental effect when dietary Ca content was increased by 50 % above the normal requirements of the rat.; low dietary Ca during pregnancy and lactation produced an increase of Zn utilization, reflected in maternal blood Zn and in ZnF content.
Key words: Calcium, zinc, pregnancy and lactation, nutritional status.

INTRODUCCION

La buena nutrición es uno de los pilares sobre los que se cimienta el desarrollo de los pueblos, siendo la salud materna durante el embarazo y la lactancia uno de los indicadores que diferencia el grado de desarrollo de los países (1).

Argentina no cuenta con datos nacionales que proporcionen un panorama completo del estado nutricional. Algunas encuestas han revelado un elevado porcentaje de población, de diferentes edades y estados fisiológicos, que presenta bajas ingestas de calcio (Ca), lo cual podría ser una de las causas de deterioro del tejido óseo materno y consiguiente riesgo de posterior osteoporosis en la edad adulta (2-5). Respecto de mujeres gestantes y lactantes del Gran

Buenos Aires, otras encuestas recientes han evidenciado también elevada prevalencia de baja ingesta de Ca, conjuntamente con ingestas marginales de zinc (Zn) (6).

Durante el embarazo y lactancia están incrementadas las necesidades de nutrientes y las deficiencias nutricionales implican un riesgo para la salud materno-infantil. Las adaptaciones fisiológicas que ocurren durante el embarazo tienden a lograr un adecuado desarrollo fetal, aún a expensas de la salud materna (7). En el primer semestre se produce un sustancial aumento del volumen plasmático y de la masa eritrocitaria, liberándose sustancias vasodilatadoras y de inhibición de la agregación plaquetaria, que convierten el lecho vascular en un sistema de baja resistencia. La falla en estos mecanismos de adaptación a los cambios fisiológicos

puede conducir a hipertensión inducida por el embarazo (HIE) (8-10), cuyas causas no están perfectamente esclarecidas, aunque existen evidencias de su relación con la baja ingesta de Ca (11-12). A su vez, bajas ingestas de Zn y/o bajas concentraciones de dicho micronutriente en plasma o eritrocitos podrían relacionarse con ciertas complicaciones durante la gestación como aumento de la incidencia de abortos, alteraciones en el desarrollo del feto, nacimientos prematuros, disminución del peso del recién nacido y efectos tardíos en el crecimiento infantil (13).

Se ha documentado que los suplementos de Ca reducen el riesgo de HIE y de preeclampsia (12). Sin embargo, las complejas interacciones Ca-Zn (14) hacen necesario prestar atención al posible efecto adverso de los suplementos de Ca sobre la utilización del Zn, así como estudiar la influencia de las bajas ingestas de Ca, aspecto sobre el cual existe escasa información. En este sentido, Kenney y McCoy, suplementando dietas bajas en Ca con cantidades moderadas de Zn, en ratas, encontraron que se hallaba alterado el intercambio Zn/Ca en fémur, lo que se traducía en variaciones en sus dimensiones, contenido mineral y propiedades mecánicas (15). Además, Dursun and Aydojan observaron en ratas alimentadas con dietas bajas en Ca que no se modificaba significativamente la absorción porcentual de Zn, aunque existía un incremento en su concentración en duodeno, cerebro, hígado y sangre (16).

Teniendo en cuenta los antecedentes mencionados, el objetivo del presente trabajo longitudinal fue evaluar, en un modelo experimental en ratas, la influencia del nivel de Ca de la dieta consumida durante preñez y lactancia, sobre el contenido materno de Zn en sangre y fémur.

MATERIALES Y METODOS

Animales

Ratas adultas de la cepa Wistar fueron criadas y mantenidas en bioterio con condiciones estandarizadas de temperatura (21°C), de humedad (70%) y con ciclos de luz-oscuridad de 12 hs, regulados automáticamente (de 8-20 hs). Cuando alcanzaron un peso entre 250 y 350 g (aproximadamente 5 meses de edad) se aparearon en la relación de 4 hembras por macho. Una vez comprobado el estado de preñez, mediante el hallazgo de espermatozoides en los extendidos vaginales, se asignaron 7 ratas hembras a cada grupo experimental y se alojaron en jaulas individuales de acero inoxidable, administrándoles «ad-libitum» agua desionizada y las dietas experimentales. Al nacimiento de las crías se registraron el peso y el número de las mismas, las que se ajustaron a 8 por madre.

El peso de las madres se registró al inicio de la gestación, al parto y al destete. A la tercera semana de la gestación y al destete se tomaron muestras de sangre materna de la vena caudal, con heparina como anticoagulante, entre las 10 y 12 hs

para evitar variaciones circadianas. Luego del destete, las madres se sacrificaron y se les extrajo el fémur derecho. Toda la experiencia fue realizada de acuerdo a la Guía para cuidado y uso de Animales de Laboratorio del National Institute of Health, USA (17).

Dietas experimentales

El presente modelo experimental para gestación y lactancia fue aplicado en estudios previos, anteriores a 1993 (18), año en que se publicaron las últimas recomendaciones para la preparación de las dietas para animales de experimentación (19). Por lo tanto, para poder comparar los presentes resultados con aquellos, se utilizaron dietas basadas en las recomendaciones de 1976/1980 para la preñez y lactancia (17,20), modificando el porcentaje de lípidos y variables en el contenido de Ca. Se utilizó una mezcla de sales libres de Ca (4 g/100 de dieta que aportó por 100g de dieta 0.6 g de P y 3.5 mg de Zn). Se agregó carbonato de Ca anhidro para alcanzar una concentración de Ca en la dieta de 0.2; 0.6 y 0.9 g/100 g de dieta (grupos BAJO, NORMAL y ALTO respectivamente). Todas las dietas fueron isocalóricas (4 kcal/g) y su composición de detalla en la Tabla 1.

TABLA 1
Composición de las dietas experimentales

Dietas experimentales (g/100 g)	
Proteínas ¹	20
Lípidos ²	10
Vitaminas hidrosolubles ³	0.25
Vitaminas liposolubles ⁴	0.5
Sales libres de Ca ⁵	4
Ca ⁶	variable
Colina	0.15
Dextrina ⁷	csp 100

1- Caseinato de potasio (gentilmente donado por Nestlé Argentina S.A.), que contenía 85.1% de proteína y 0.095% de Ca. 2-Aceite de maíz. 3-Composición de la mezcla vitamínica (g/kg): tiamina.HCl, 2.0; riboflavina, 2.0 ; ácido nicotínico, 10.0; piridoxina.HCl, 1.0; ácido fólico, 0.8; D-biotina, 0.4; D-pantotenato de calcio, 8.0; cyanocobalamina, 0.08; menaquinona, 2; inositol, 40.0; ácido ascórbico, 20.0; y sacarosa en csp 1000g (18). 4- Composición de la mezcla vitamínica (g/kg): colecalciferol, 2000 UI; retinol, 4000 UI; α tocoferol, 100 mg y aceite en csp 1000 g (esta mezcla se incorporó en el aceite de maíz) (18). 5- Composición de la mezcla de sales (g/kg): KH_2PO_4 , 488.1; NaCl, 356.7; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 141.8; citrato férrico de amonio, 9.0; $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 2.2; $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 1.7; ZnCl_2 , 0.28; KI, 0.0095; NH_4Mo , 0.038; CoCl_2 , 0.024 (17,20). 6- Se agregó carbonato de Ca anhidro para alcanzar una concentración de Ca en la dieta de 0.2; 0.6 y 0.9 g/100 g de dieta (grupos bajo, normal y alto respectivamente). 7-Refinerías de maíz, Baradero, Argentina.

Ingesta de nutrientes

El consumo de alimento se registró tres veces por semana. En base al consumo y a la composición de las dietas, se calcularon las ingestas de Ca y Zn.

Determinaciones bioquímicas

En sangre entera se determinó Zn. Se extrajeron los fémures derechos de las madres, al destete, liberándolos de tejido muscular y secándolos durante 72 hs. en estufa a 100°C. Se desengrasaron con mezcla de cloroformo:metanol (3:1) y se secaron en estufa durante 48 hs. a 100°C. Sobre la muestra desengrasada y seca se determinó el peso. Posteriormente, se mineralizaron por vía seca (según el método de AOAC) (21), hasta aspecto blanco cristalino. Las cenizas se disolvieron en ClH cc p.a. y se llevaron a volumen adecuado con agua desionizada para determinar Ca y Zn.

Se determinaron Ca y Zn por espectrofotometría de absorción atómica (EAS) (espectrofotómetro Varian, modelo SpectrAA-20, con llama de aire-acetileno) con el agente Cl_3La , en una concentración de 6500 ppm, en la solución de lectura, como supresor de interferencias (22).

Los diferentes pesos se determinaron con una balanza analítica Mettler con precisión ± 0.1 mg

Análisis estadístico de los resultados

Los datos se expresaron como media \pm error estándar de la media. Se aplicó análisis de varianza y los test de Student-Newman-Keuls para las comparaciones intragrupo «a posteriori» (23).

RESULTADOS

Consumo de dieta y nutrientes

La Tabla 2 muestra los consumos promedio de dieta (g/rata/día), Ca (mg/rata/día) y Zn (μg /rata/día) desglosados en dos períodos: desde el inicio de la preñez hasta el parto y desde el parto hasta el día 15 de lactancia. A partir de los 17 días de edad las crías comienzan a consumir dieta sólida, por lo cual no se incluyó el consumo materno a partir del día 15 de la lactancia. Durante la preñez, el consumo de dieta en el grupo BAJO, fue significativamente mayor que en el ALTO y el NORMAL ($p = 0.0001$), pero no hubo diferencias significativas entre los grupos durante la lactancia. El mayor consumo de dieta en el grupo BAJO durante la preñez se tradujo en mayor ingesta de Zn ($p < 0.0005$). Como era de esperar la ingesta de Ca fue significativamente diferente entre los tres grupos y en ambos períodos ($p < 0.0001$) debido al distinto contenido de Ca en la dieta.

TABLA 2
Consumo promedio diario de dieta, Ca y Zn
(Promedio \pm error estándar de la media)

	Consumo de dieta (g/rata/día)		Ca (mg/rata/día)		Zn (μg /rata/día)	
	Preñez	Lactancia*	Preñez	Lactancia*	Preñez	Lactancia*
Alto	14.5 \pm 1.2 ^a	33.2 \pm 3.9 ^a	130 \pm 11 ^a	299 \pm 35 ^a	507 \pm 43 ^a	1161 \pm 137 ^a
Normal	15.2 \pm 1.0 ^a	31.6 \pm 3.6 ^a	91 \pm 6 ^a	189 \pm 22 ^b	532 \pm 34 ^a	1105 \pm 127 ^a
Bajo	20.9 \pm 0.3 ^b	29.4 \pm 2.2 ^a	42 \pm 1 ^b	59 \pm 4 ^c	732 \pm 10 ^b	1030 \pm 76 ^a
p	0.0001	ns	< 0.0001	< 0.0005	< 0.0005	ns

Alto, normal y bajo: grupos alimentados con dietas conteniendo 0.9, 0.6 y 0.2 g de Ca/100 g respectivamente y con 3.5 mg de Zn/100 g de dieta.

Lactancia*: desde el parto hasta el día 15 de la lactancia

Superíndices distintos en la misma columna indican diferencias significativas

ns: diferencias no significativas

Variaciones de peso de las ratas madres y características de la progenie

En la Tabla 3 se observa el porcentaje de incremento de peso de las ratas madres desde el inicio de la preñez hasta el parto y el porcentaje de disminución de peso desde el parto hasta el destete. Si se considera el incremento de peso entre el inicio de la experiencia y el parto, se puede observar que el grupo NORMAL presentó un valor significativamente mayor que el ALTO ($p < 0.05$). La disminución de peso desde

el parto hasta el destete no presentó diferencias significativas entre los grupos estudiados.

No se observaron diferencias significativas en el número total de crías o en su peso al nacimiento. Las crías del grupo BAJO crecieron más lentamente que los demás grupos mientras que el peso al destete fue alcanzado más rápidamente por el grupo NORMAL, luego el ALTO, y por último el BAJO (21 vs 22 vs 23 días). La velocidad de ganancia de peso fue menor para el grupo BAJO en los primeros cinco días pero luego se

equiparó con los demás grupos (no se muestran los datos, reportados en referencia 24).

TABLA 3
Variaciones de peso de las ratas madres
(Promedio \pm error estándar de la media)

	Variaciones de peso %	
	Preñez	Lactancia
Alto	17,7 \pm 2,7 ^a	-10,6 \pm 1,6 ^a
Normal	29,8 \pm 2,4 ^b	-16,0 \pm 2,9 ^a
Bajo	21,9 \pm 3,3 ^{a,b}	- 8,0 \pm 3,0 ^a
P	<0.05	ns

Alto, normal y bajo: grupos alimentados con dietas conteniendo 0.9, 0.6 y 0.2 g de Ca/100 g respectivamente y con 3.5 mg de Zn/100 g de dieta.

Superíndices distintos en la misma columna indican diferencias significativas ns: diferencias no significativas

Determinaciones en sangre

En la Tabla 4 se pueden observar los valores de Zn en sangre entera en los grupos experimentales al parto y al destete. Los valores de Zn no mostraron diferencias significativas entre los grupos ALTO y NORMAL. Sin embargo, el BAJO presentó valores superiores a los demás grupos experimentales en ambos períodos de estudio ($p < 0.0001$).

TABLA 4
Zn en sangre entera en los grupos experimentales
al parto y al destete
(Promedio \pm error estándar de la media)

	Zn (μ g/ml)	Zn (μ g/ml)
	Parto	Destete
Alto	3.21 \pm 0.19 ^a	3.85 \pm 0.27 ^a
Normal	3.49 \pm 0.19 ^a	3.73 \pm 0.37 ^a
Bajo	8.73 \pm 1.05 ^b	12.8 \pm 2.02 ^b
p	<0.0001	<0.0001

Alto, normal y bajo: grupos alimentados con dietas conteniendo 0.9, 0.6 y 0.2 g de Ca/100 g respectivamente y con 3.5 mg de Zn/100 g de dieta.

Superíndices distintos en la misma columna indican diferencias significativas ns: diferencias no significativas

Determinaciones en fémur

En la Tabla 5 figuran los valores de Ca y Zn en fémur, expresados como mg/fémur y como porcentaje del peso. El contenido total de Ca no evidenció diferencias significativas entre los grupos, pero al expresarlo como porcentaje del peso,

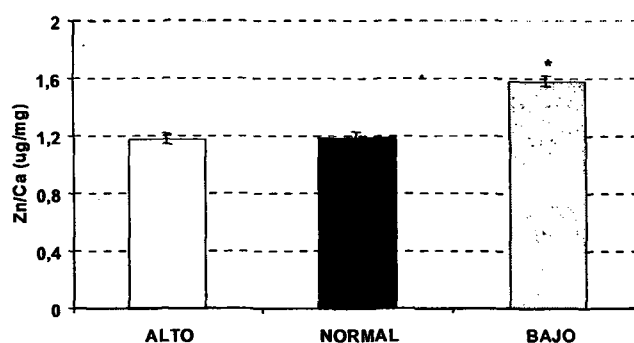
el grupo BAJO presentó valores significativamente superiores al NORMAL y al ALTO ($p < 0.005$). Contrariamente, el contenido de Zn ($p < 0.0001$), tanto en mg totales como en mg% fue mayor en el grupo BAJO que en el ALTO y el NORMAL. Por ello la relación Zn/Ca fue significativamente mayor en el grupo BAJO que en los demás grupos (Figura 1) ($p < 0.0001$).

TABLA 5
Ca y Zn en fémur al destete en los grupos experimentales
(Promedio \pm error estándar de la media)

	Alto	Normal	Bajo	p
Ca (mg)	111.5 \pm 3.2 ^a	114.0 \pm 4.3 ^a	110.0 \pm 6.2 ^a	ns
Ca (mg%)	20.5 \pm 0.5 ^a	21.4 \pm 0.3 ^a	19.2 \pm 0.4 ^b	< 0.005
Zn (μ g)	123.3 \pm 5.6 ^a	128.0 \pm 4.3 ^a	172.2 \pm 7.7 ^b	< 0.0001
Zn (μ g/100mg)	24.1 \pm 0.9 ^a	24.1 \pm 0.3 ^a	30.2 \pm 0.9 ^b	< 0.0001

Alto, normal y bajo: grupos alimentados con dietas conteniendo 0.9, 0.6 y 0.2 g de Ca/100 g respectivamente y con 3.5 mg de Zn/100 g de dieta. Superíndices distintos en la misma fila indican diferencias significativas ns: diferencias no significativas

FIGURA 1
Relación Zn/Ca en fémur



Alto, normal y bajo: grupos alimentados con dietas conteniendo 0.9, 0.6 y 0.2 g de Ca/100 g respectivamente y con 3.5 mg de Zn/100 g de dieta.

*: $p < 0.001$ con respecto a Alto y Normal

DISCUSION

La interacción Ca/Zn es un tema discutido, pero no aclarado. Se ha postulado que el Zn y el Ca podrían competir a nivel intestinal por un mismo transportador, por existir un mecanismo de absorción transcelular común a ambos cationes y que, además, el Ca podría disminuir la absorción del Zn reduciendo el transporte pasivo a través del duodeno (25).

Si bien el mecanismo de la absorción del Ca es conocido, los mecanismos involucrados en la absorción del Zn no son

tan claros (26), puesto que las dificultades metodológicas hacen difícil evaluar su biodisponibilidad. Las determinaciones de Zn en muestras biológicas como suero, plasma, glóbulos rojos y pelo son las más utilizadas como indicadores de estado nutricional, presentando cada una diversos inconvenientes. La concentración en suero o plasma se incrementa cuando existe hemólisis, aún imperceptible y puede estar alterada en el caso de infecciones o de ejercicio intenso (27-29). En el caso particular de la gestación se ha evidenciado una disminución que guarda relación con el incremento del volumen plasmático, que es difícil de interpretar (30). La concentración en eritrocitos es un reflejo del Zn disponible en el momento de la eritropoyesis; sin embargo, la determinación de Zn en sangre entera ha sido poco estudiada como indicador de estado nutricional, aunque es útil para estudios en humanos (31).

Nuestros resultados preliminares en mujeres gestantes indicaron una relación inversa entre la ingesta de Ca y la concentración de Zn en sangre entera durante el curso del embarazo (32). No obstante, la existencia de diversas variables en las dietas humanas hace difícil interpretar los resultados. Por ello, en el presente modelo experimental, la única variable fue la concentración de Ca de la dieta, que en el grupo NORMAL se ajustó a las recomendaciones para la rata en período de gestación y lactancia y en los otros dos grupos representó, respectivamente, 38% y 173% de aquella cifra. Además, la concentración de Zn en las tres dietas experimentales fue constante y suficiente para cubrir los requerimientos de la rata durante el período reproductivo.

Los presentes resultados evidencian que, al igual que en las gestantes con baja ingesta de Ca, en el modelo experimental en ratas, el grupo con BAJO nivel de Ca presentó un aumento de la concentración sanguínea de Zn. El efecto del incremento del consumo de dieta en ese grupo con respecto a los otros dos se descartaría debido a que el aumento en la ingesta de Zn en la preñez (38%) no sería suficiente para explicar el gran aumento observado en los niveles de Zn en sangre (250%) (Tablas 2 y 4). Además, los niveles de Zn en sangre continuaron incrementándose durante la lactancia aunque en ese período no hubo diferencias en el consumo de dieta entre los 3 grupos estudiados. Estos resultados confirmarían la interacción entre el Ca y el Zn de la dieta a bajos niveles de Ca, durante el embarazo y lactancia. Esta acción competitiva fue observada por Rossowska, en las vesículas del retículo sarcoplásmico de músculo esquelético de ratas jóvenes (33).

Murray y col observaron en ratas, un incremento del contenido de Zn en hueso, con sustitución parcial del Ca óseo por el Zn, ante dietas bajas en Ca (34). Posteriormente, los trabajos de Kenney y McCoy, que suplementaron dietas bajas en Ca con cantidades moderadas de Zn, también en ratas, encontraron alteraciones en la relación Zn/Ca en fémur, lo

que se traducía en variaciones en sus dimensiones, contenido mineral y propiedades mecánicas (15). Los presentes resultados de composición de fémur concuerdan con los mencionados, ya que evidencian en la dieta baja en Ca un incremento de la relación Zn/Ca en fémur (Figura 1), lo cual corroboraría la existencia de un reemplazo mineral del Ca por el Zn, ante dietas bajas en Ca, durante la gestación y lactancia.

A pesar de la esencialidad del Zn tanto para el crecimiento fetal como para la salud materna, no serían deseables niveles demasiado altos de Zn en el organismo. Las concentraciones elevadas de Zn en fémur, cuando la dieta materna es baja en Ca conducirían a efectos negativos en las propiedades físicas y mecánicas del hueso; así como podrían afectar otros procesos metabólicos (35,36). Aunque no hay evidencia, en humanos, acerca de efectos adversos debidos a cantidades elevadas de Zn provenientes de la dieta, recientemente se han establecido cifras máximas tolerables para el Zn proveniente de alimentos fortificados y suplementos dietarios. Dichos efectos adversos se asocian con alteraciones de la respuesta inmune y disminución de la absorción del cobre (35) y no se han publicado estudios sobre sus relaciones con los niveles en fluidos o tejidos. Sin embargo, en función de esos conocimientos es de importancia tener en cuenta no sólo una ingesta de Ca adecuada, sino también una relación Zn/Ca equilibrada, que permita mantener las concentraciones de Zn en los rangos fisiológicos normales.

Los resultados del presente trabajo permiten concluir que, en el modelo experimental estudiado durante la gestación y la lactancia, la interacción entre el Zn y el Ca, reflejada en el incremento de Zn en sangre y fémur, existiría a bajas concentraciones de Ca de la dieta materna. Por otra parte, el aumento del Ca de la dieta hasta los niveles utilizados en el presente estudio no afectó los niveles de Zn en hueso ni en sangre. Si bien deberían intensificarse los trabajos utilizando otra metodología, el presente estudio sugiere que, cuando se cubren las necesidades de Zn, tal interacción existiría a bajas ingestas de Ca.

Este trabajo se realizó en el marco de la Programación UBACyT, Subsidios AB26, TB060, B062 y B 009.

REFERENCIAS

1. Situación alimentaria y nutricional de América Latina. Conferencia Internacional sobre Nutrición. FAO, Oficina Regional para América Latina y el Caribe. OPS/OMS, Santiago de Chile (Chile), 1993.
2. Memoria anual 1976. Instituto de Ciencias de la Nutrición del NOA. Secretaría de Estado de Salud Pública de la Nación. Universidad nacional de Salta, 1976.
3. Boyer P, Portela ML, Rio ME. Un aspecto de la alimentación

- en Argentina. Cuadernos Mexicanos de Nutrición 1986; 9:12-6.
4. Boyer P, Portela ML, Rio ME, Sanahuja JC. Evaluación del estado nutricional de una población estudiantil. *Medicina* 1987; 47:51-6.
 5. Zeni S, Portela ML. Estado nutricional con respecto al calcio en la Argentina. *Arch Latinoamer Nutr* 1988; XXXVIII: 209-18.
 6. Altorcía M, Langini SH, Leal GM et al. Perfil bioquímico nutricional con respecto a calcio y vitamina A en un grupo de gestantes del Gran Buenos Aires. *Arch Latinoamer Nutr* 1994; 44: 20 S, abs. 69.
 7. Prentice A. Maternal calcium requirements during pregnancy and lactation. *Am J Clin Nutr* 1994; 59: 477S-83S.
 8. Zuspan F. Hipertensión crónica en el embarazo. *Clin Obst Gynecol* 1984; 4: 1085.
 9. Hays PM, Cruiks Hank DP, Doniy JJ. Plasma volume determination in normal and preeclamptic pregnancies. *Am J Obstet Gynecol* 1985; 151: 958.
 10. Weinsier L, Norris D. Recent developments in the etiology and treatment of hypertension: dietary calcium, fat and magnesium. *Am J Clin Nutr* 1985; 42: 1331-8.
 11. Osborne CG et al. Evidence for the relationship of calcium to blood pressure. *Nutr Rev* 1997; 55:1-9.
 12. Repke JT, Villar J. PreNormalancy-induced hypertension and low birth weight: the role of calcium. *Am J Clin Nutr* 1991; 54: 237S-41S.
 13. Shrimpton R. Zinc deficiency, is it widespread but under-recognized?. Focus on micronutrients. SCN News, United Nations Unies. Subcommittee on Nutrition 1993; 9: 24-7
 14. Snedeker SM, Smith SA, Greger JL. Effect of dietary calcium and phosphorus levels on the utilization of iron, copper, and zinc by adult males. *J Nutr* 1982; 112: 136-43.
 15. Kenney MA and McCoy H. Adding zinc reduces bone strength of rats fed a low-calcium diet. *Biol Trace Elem Res* 1997; 58: 35-41.
 16. Dursun N and AydoAlton S. Comparative effects fo calcium deficiency and supplements on the intestinal absorption of zinc in rats. *Jpn Physiol* 1994; 44 (2): 157-66.
 17. Second report of the ad hoc Committee on standards for nutritional studies. *J Nutr* 1980; 110:1726.
 18. Ronayne de Ferrer PA and Sambucetti ME. Casein to whey proteins ratio in rat and human milks: effects of maternal protein intake. *J Dairy Sci* 76: 1645,1993.
 19. AIN-93 Purified Diets for Laboratory Rodents: Final Report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Comittee on the Reformulation of the AIN-76 Rodent Diet. *J Nutr* 1993; 123: 1939-51.
 20. Report of the American Institute of Nutrition ad hoc Committee on standards for nutritional studies. *J Nutr* 107: 1340-48, 1977.
 21. Official Methods of Analysis of the A.O.A.C. 13th. Edition; Washington D.C. U.S.A. Association of Official Analytical Chemists, 1980; 14.
 22. Perkin Elmer Corp. Analytical method for atomic absorption spectrophotometry. Perkin Elmer Corp. Norwalk C.T., 1971.
 23. Sokal RR, Rohi FJ. Biometry: the principles and practice of statistics in biological research. W.H. Freeman and Company; San Francisco, 1969.
 24. WEISSTAUB, A. Influencia de la ingesta de Calcio durante la gestación sobre el estado nutricional con respecto al Calcio y otros minerales, en la madre y en la progenie: modelo experimental en ratas. Tesis Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina, 2001.
 25. Wapnir RA. Calcium, magnesium and phosphorus absorption. In: Protein nutrition and mineral absorption. CRP Press, Florida, USA, Chap. V, 1990.
 26. Krebs N. Overview of zinc absorption and excretion in the human gastrointestinal tract. *J Nutr* 2000 (Suppl); 130: 1374S-7S.
 27. Beisel WR, Pekarek RS, Wannemacher RW. Homeostatic mechanisms affecting plasma zinc levels in acute stress. *Trace Elem in Humans Health and Dis* 1976; 1: 87-106.
 28. Solomons NW. On the assessment of zinc and copper nutriture in man. *Am J Clin Nutr* 1979; 32: 856-71.
 29. Jacobs GM, Hambidge KM, Stall C, Pritts J, Nelson D. Daily variations in plasma zinc in normal adult women. *Trace Elem in Man and Anim* 1988; 6: 491-2.
 30. Swanson CA and King JC. Reduced serum zinc concentration during pregnancy. *Obstet Gynecol* 1983; 62: 313-8.
 31. Gibson RS. Assessment of zinc status. In: Principles of Nutritional Assessment. New Oxford. Oxford University Press, 1990.
 32. Weisstaub A, López L, Lazzari A et al. Efecto de la suplementación con calcio, en gestantes, sobre el estado nutricional con respecto al zinc. *Actas del XIII Congreso Argentino de Nutrición* 1999; abs 49: 278.
 33. Rossowska MJ, Nakamoto T. Interaction between zinc and calcium in skeletal muscle in young growing rats. *Biol Trace Elem Res* 1993; 38 (3): 301-9.
 34. Murray EJ and Messer HH. Turnover of bone zinc during normal and accelerated bone loss in rats. *J Nutr* 1981; 111 (9): 1641-7.
 35. Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium and Zinc. Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary References Intakes, Food and Nutrition Board & Institute of Medicine, National Academy of Sciences, Washington, D.C., 2001.
 36. Zinc and Health: Current Status and Future Directions. *J Nutr* 2000; (130): 5S. Proceedings of a workshop held November 4-5, Betsheda, MD, 2000.

Recibido: 13-02-2002

Aceptado: 24-04-2003

Quantificação de *Listeria monocytogenes* em salames fatiados embalados a vácuo

Ricardo Ichiro Sakate, Lina Casale Aragon, Fernanda Raghianti, Mariza Landgraf, Bernadette D. G. M. Franco, Maria Teresa Destro

Universidade de São Paulo - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental. Laboratório de Microbiologia de Alimentos. SP. Brasil

RESUMO. Pouco se sabe, no Brasil e na América do Sul, sobre a ocorrência de *Listeria monocytogenes* em embutidos cárneos fermentados, fatiados, embalados a vácuo. Por suas características de produção e armazenamento, estes produtos são potenciais veiculadores deste patógeno ao ser humano, principalmente imunodeprimidos, idosos e grávidas, levando a disfunções gastrointestinais e neurológicas. Neste trabalho, foram analisadas 45 amostras de diferentes tipos e marcas de salames fatiados embalados a vácuo, refrigerados, provenientes de diferentes pontos do comércio varejista da mais populosa cidade da América do Sul, São Paulo - Brasil. Do total de amostras analisadas, 3 (6,7%) apresentaram populações de *L. monocytogenes* de 9,2 NMP/g, sendo duas pertencentes ao sorotipo 1/2a e uma ao 1/2b, os mais frequentemente encontrados também em outros países. Esta contaminação demonstra a necessidade de um rastreamento maior e em nível nacional da presença desta bactéria em produtos prontos para consumo. Isto pode, no futuro, auxiliar os órgãos governamentais de fiscalização a adotarem níveis máximos permitidos de *Listeria monocytogenes* nestes alimentos e as indústrias e comércio a implementarem medidas de controle higiênico-sanitário como GMP e sistemas como HACCP, garantindo, assim, um produto seguro para a saúde do consumidor. **Palavras-chave:** *Listeria monocytogenes*, salame, alimento pronto para consumo

SUMMARY. Occurrence of *Listeria monocytogenes* in pre-sliced vacuum-packaged salami in São Paulo - Brazil. There is scarce information in Brazil and other South American countries about the occurrence of *Listeria monocytogenes* in food, mainly refrigerated ready-to-eat products. The consumption of sliced vacuum-packaged meat products has increased in the last few years. Nevertheless, a complete assessment of the risk associated with *L. monocytogenes* in these products is still necessary. Because of the production and storage characteristics of these products, they can be considered potential vehicles for *L. monocytogenes* to humans, mainly immunocompromised, elderly, and pregnant women. The objectives of this study was to evaluate the population of *L. monocytogenes* in salami, a ready-to-eat meat product with extended shelf life, acquired in retail stores in São Paulo - Brazil. The three-tube most probable number technique was used and the methodology was that from Health Canada. Strains were biochemically identified and serotyped. Among the 45 samples, 3 (6,7%) harboured 9,2 MPN/g of *L. monocytogenes* and the others < 0,3 MPN/g. All the strains belonged to serotypes 1/2a and 1/2b, the most frequent serotypes found in food everywhere. Even being low, the population of *L. monocytogenes* found in this product could be a cause of concern to public health authorities as it can pose a threat to population at risk. This contamination highlights the importance of implementing systems like HACCP to assure safe products to consumers. **Key words:** *Listeria monocytogenes*, salami, ready-to-eat food.

INTRODUÇÃO

Mudança nos hábitos alimentares, aparecimento de novos produtos do tipo "pronto para consumo" e minimamente processados, aumento no número de refeições coletivas e o surgimento de novos processos de criação intensiva de animais têm feito com que o risco de surtos de doenças transmitidas por alimentos aumente e microrganismos pouco frequentes entrem em evidência, principalmente, quando se consideram indivíduos imunodeprimidos, idosos, crianças e neonatos, gestantes e enfermos com doenças degenerativas crônicas ou agudas.

Dentre os mais importantes e perigosos microrganismos causadores de infecções de origem alimentar destaca-se a

Listeria monocytogenes, agente precursor da listeriose, doença zoonótica grave que pode levar ao aborto, a problemas neurológicos e a disfunções gastro-intestinais. Alguns estudos sugerem que até 21% dos humanos sejam portadores desta bactéria nos intestinos (1). Ela tem sido encontrada mundialmente em pelo menos 42 espécies de mamíferos, tanto domésticos quanto silvestres, assim como em pelo menos 22 espécies de aves e também em algumas espécies de peixes e moluscos (2). *L. monocytogenes* é ubiqüitária podendo ser isolada do solo, água, silagem, plantas e outras fontes ambientais. Esta bactéria, mesmo não sendo esporulada, é bem resistente e suporta os efeitos deletérios do congelamento, desidratação, acidez e calor, (3). Ela pode ainda se desenvolver em ambientes com baixas tensões de

oxigênio, devido à sua característica microaerófila.

L. monocytogenes tem sido associada a alimentos tais como, leite cru ou pasteurizado, queijos, sorvetes, vegetais crus, embutidos de carne, frango cru e cozido, carne crua e peixes crus ou defumados. A habilidade de se desenvolver em temperaturas tão baixas quanto 3°C, permite sua multiplicação em alimentos refrigerados (4).

De acordo com Rocourt e Cossart (5), diversos alimentos têm sido envolvidos em casos esporádicos e surtos de listeriose, entretanto, alguns grupos de alimentos são mais importantes como veículos de *L. monocytogenes*. Entre eles, os produtos prontos para consumo, estocados à temperatura de refrigeração e com vida de prateleira longa são considerados os de maior risco, assim como alimentos contendo uma população elevada (>100 UFC/g ou ml) de *L. monocytogenes*. A incidência de *L. monocytogenes* em produtos cárneos cozidos varia de 3,5 a 85% (6-10).

Produtos prontos para o consumo, principalmente derivados de carne e peixe, têm sido implicados como causa de listeriose em diferentes países (11-13).

O salame é um produto cárneo obtido de carne suína ou mistura de suína e bovina, adicionado de toucinho, condimentos e outros ingredientes, embutido em envoltórios naturais e/ou artificiais, curado, fermentado, maturado, defumado ou não e dessecado (14).

Este produto, que não passa por tratamento térmico, pode abrigar células de *L. monocytogenes*. Quando fatiado e embalado a vácuo, há o risco de ocorrer a contaminação durante o fatiamento e a multiplicação das células durante a estocagem sob refrigeração (15).

Baseado neste risco associado ao consumo de embutidos cárneos fermentados e devido à existência de poucos trabalhos, no Brasil, associando *L. monocytogenes* aos produtos "prontos para consumo", objetivou-se avaliar a população deste patógeno em vários tipos de salames fatiados embalados à vácuo, bem como identificar o sorotipo das cepas isoladas.

MATERIAL E MÉTODOS

Material

Foram adquiridas no comércio varejista da cidade de São Paulo, SP, Brasil, 45 amostras de vários tipos de salame fatiado embalados a vácuo e refrigerados. Todas as amostras foram produzidas por estabelecimentos sob Inspeção Federal e estavam dentro do período de validade estipulado pelo fabricante.

As amostras foram acondicionadas em recipientes isotérmicos com gelo reciclável, transportadas ao laboratório e mantidas sob refrigeração a 4 °C até o instante das análises, que foram realizadas no Laboratório de Microbiologia de Alimentos da Faculdade de Ciências Farmacêuticas – USP, no período de outubro de 2001 a janeiro de 2002.

Métodos

A população de *L. monocytogenes* foi determinada utilizando-se o método preconizado por Pagotto et al. (16) e a técnica do Número Mais Provável (NMP), de acordo com o descrito por Garthright (17).

Pesou-se asepticamente, em embalagem plástica estéril, 25g de cada amostra e adicionou-se 225ml de caldo de enriquecimento para *Listeria* (LEB, formulação UVM-1) (Oxoid, UK). Após homogeneização, diluições decimais foram inoculadas em séries de três tubos de caldo LEB, que foram incubados a 30°C por 24h. Alíquotas de 0,1ml foram transferidas para tubos contendo caldo Fraser (Oxoid), que foram incubados a 35°C por 24-48h.

A partir de cada tubo de caldo Fraser enegrecido (positivo), procedeu-se à semeadura em placas dos ágares seletivos Oxford (OXA) e PALCAM (PAL) (ambos Oxoid), que foram incubadas a 35°C por 48h.

De 3 a 5 colônias típicas de cada placa foram purificadas em ágar soja triptona adicionado de 0,6% de extrato de levedura (TSA-YE) (ambos Oxoid) e submetidas aos testes de produção de catalase, de hemólise, fermentação de dextrose, xilose, ramnose e manitol e motilidade em ágar semi sólido a 25 °C (16).

Após a confirmação das cepas como sendo *L. monocytogenes*, calculou-se o Número Mais Provável por grama (NMP/g) do microrganismo, consultando-se a tabela de NMP (17).

As cepas de *L. monocytogenes* isoladas foram sorogrupadas utilizando-se antisoros tipo 1 e 4 (Difco, USA) e sorotipadas empregando-se o kit "Listeria antisera Seiken" (Denka Seiken, Japão).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

L. monocytogenes foi detectada em 3 (6,7%) amostras das 45 analisadas, sendo a população de 9,2 NMP/g para todas as amostras positivas.

Resultados semelhantes foram encontrados por Moreno et al. (9), na Espanha, que analisando 559 amostras de produtos cárneos, encontraram 6,6% das amostras com *L. monocytogenes* e por Vorster et al. (18), na África do Sul, que encontraram 8,2% das amostras de carnes processadas contaminadas com *Listeria*.

Em um levantamento realizado entre 1990 e 1999, pelo "Food Safety and Inspection Services (FSIS)" dos EUA, em 1800 estabelecimentos, verificou-se que a prevalência de *L. monocytogenes* variou de 0,52% a 5,16%, nos diferentes tipos de derivados de aves e de carnes prontos para o consumo. Embutidos fermentados secos, ou semi-secos, só foram avaliados entre 1997 e 1999 e a prevalência de *L. monocytogenes* foi de 3,25% (19).

No Brasil, Borges et al. (20) analisaram 81 amostras de 4

tipos diferentes de salame (Friolan, Hamburguês, Italiano e Milanês), de 5 marcas comerciais diferentes, compradas no Rio de Janeiro. Dentre as amostras positivas para *Listeria* sp, *L. monocytogenes* foi isolada em 13,3%.

A ocorrência de *L. monocytogenes* em produtos cárneos embalados a vácuo foi estudada por Grau e Vanderlinde (21). Eles verificaram que 78 (44%) das amostras examinadas abrigavam *L. monocytogenes*. *L. monocytogenes* não foi encontrada nas 19 amostras de salame analisadas.

Becker et al. (22), na Alemanha, analisaram 287 amostras de embutidos cárneos cozidos e encontraram *L. monocytogenes* em 30 (10,5%) destas amostras.

Campillo et al (23) pesquisaram, na Espanha, a incidência de *L. monocytogenes* em 8 tipos de produtos cárneos e observaram que das 175 amostras analisadas, o patógeno foi encontrado em 11,4%.

Dados sobre a população de *L. monocytogenes* em produtos cárneos embalados à vácuo ainda são escassos. A maioria dos estudos refere-se à presença ou ausência do microrganismo. O plaqueamento direto em ágar seletivo de alíquotas do produto pode não ser eficaz pois as células de *L. monocytogenes* podem estar estressadas ou podem estar presentes em número pequeno, não sendo possível sua enumeração. A técnica do número mais provável permite a recuperação das células estressadas e a detecção do microrganismo mesmo quando a população é baixa. Entretanto é laboriosa e de alto custo. A população de *L. monocytogenes* encontrada nas amostras de salame na presente pesquisa ficou entre <0,3 NMP/g a 9,2 NMP/g. Esta população, apesar de aparentemente baixa, deve ser considerada com cautela, uma vez que a dose infecciosa necessária para provocar a listeriose ainda não está estabelecida.

Nos estudos onde a população foi avaliada, os dados são bem variados. Schmidt (24) encontrou *L. monocytogenes* em 17% das amostras de embutidos cozidos embalados a vácuo. As populações variaram entre <100 UFC/g e 200 UFC/g.

Grau e Vanderlinde (21), na Austrália, enumeraram *L. monocytogenes* em 130 amostras de produtos cárneos embalados à vácuo e encontraram populações maiores que 1000 UFC/g em sete amostras.

Todas as cepas isoladas neste estudo pertenceram ao sorogrupo 1, sendo duas 1/2a e uma 1/2b. Este dado é preocupante pois sabe-se que a maioria (>95%) dos casos de listeriose humana é provocada por cepas de *Listeria monocytogenes* pertencentes aos sorotipos 1/2a, 1/2b ou 4b (1).

Farber et al. (25), pesquisando a presença de *Listeria* em alimentos, encontraram *L. monocytogenes* em 20% das amostras de embutidos curados secos analisados, sendo mais de 80% das *L. monocytogenes* isoladas pertencentes ao sorogrupo 1.

O predomínio de cepas de *L. monocytogenes* do sorogrupo 1 em carnes e produtos cárneos pesquisados em diversos países foi relatado por Farber e Peterkin (26). A razão para que isso ocorra ainda não está determinada.

A ocorrência de *L. monocytogenes* em salames pode ser decorrência da presença deste patógeno na matéria prima e sobrevivência ao processo tecnológico (27, 28, 29) ou devida à contaminação cruzada durante o processo de fatiamento. Uyttendaele (30) observou, na Bélgica, que a incidência de *L. monocytogenes* em produtos cárneos aumentava de 1,56% no produto íntegro para 6,65% no produto fatiado.

A implantação de programas de Boas Práticas de Fabricação (Good Manufacturing Practices) e de sistemas como o HACCP, que permitem atuar nas diversas etapas da produção, são fundamentais para que se obtenha alimentos prontos para o consumo de baixo risco para a saúde do consumidor.

AGRADECIMENTO

À Oxoid do Brasil pela doação do kit para sorotipagem de *L. monocytogenes*.

REFERÊNCIAS

1. Ryser ET, Marth EH. *Listeria*, Listeriosis and Food Safety. 2nd ed. New York: Marcel Dekker, Inc.; 1999.
2. Anônimo. Recommendations by the National Advisory Committee on Microbiological Criteria for Foods: The ecology of *Listeria monocytogenes*. USDA, FSIS, Washington, D.C. Inter. J. Food Microbiol. 1991; 14: 194-201.
3. Roberts TA, Baird-parker AC., Tompkin RB. Microorganisms in foods 5 – Microbiological specifications of food pathogens. London: Blackie Academic & Professional; 1996.
4. Norrung B, Andersen JK, Schlundt J. Incidence and control of *Listeria monocytogenes* in foods in Denmark. Int. J. Food Microbiol. 1999; 53: 195-203.
5. Rocourt J, Cossart P. *Listeria monocytogenes*. En: Doyle MP; Beuchat LR., Montville TJ. Food Microbiology – Fundamentals and Frontiers. Washington D.C.: ASM Press; 1997. p. 337-52.
6. Destro MT, Serrano AM, Kabuk DY. Isolation of *Listeria* species from some Brazilian meat and dairy products. Food Control 1991; 2: 110-2.
7. Farber J.M, Daley E. Presence of *Listeria monocytogenes* in naturally contaminated meats. Int J Food Microbiol. 1994; 22: 33-42.
8. Mañeru L, García-Jalón I. *Listeria monocytogenes* en alimentos disponibles en el mercado de Pamplona. Alimentaria 1995; 33: 39-43.
9. Moreno P, Plá S, Fagoaga F, García M, Torregrosa A. Calidad microbiologica de los productos carnicos de las areas de salud de Alcoi y Xativa durante el trieno 1993-1995. Alimentaria 1997; May: 37-41.

10. Rigiens NP, Jannes G, Herman LMF. Incidence of *Listeria* spp. and *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat chicken and turkey products determined by polymerase chain reaction and line probe assay hybridization. *J Food Prot.* 1997; 60: 548-50.
11. Center for Disease Control (CDC) Multistate outbreak of listeriosis – United States [citada 2000, December 22]. Se consigue en: URL: <http://www.cdc.gov/mmwr/pdf/wk/mm4950.pdf>
12. Vaillant V, Valk H, Rocourt J, Stainer F, Pierre O, Goulet V. Two consecutive nationwide outbreaks of Listeriosis, France, October 1999 - February 2000, Proceedings of the XIV ISOPOL; 2001 May 13-16; Mannheim, Germany. p. 171.
13. Tham W, Ericsson H, Helmersson S, Netterby T, Unnerstad H, Danielsson-Tham ML. Vacuum packed gravad or cold-smoked rainbow trout / salmon once more the cause of an outbreak of listeriosis?, Proceedings of the XIV ISOPOL; 2001 May 13-16; Mannheim, Germany. p. 168.
14. Brasil. Ministério da Agricultura. Instrução Informativa de 03/08/00 publicada no Diário Oficial da União, de 03/08/00 – Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Salame. Anexo V. Se consigue em: URL: http://www.agricultura.gov.br/sda/dipoa/instnorm22_salame5.htm
15. Johnson JL, Doyle MP, Cassens RG. *Listeria monocytogenes* and other *Listeria* spp. in meat and meat products – A review. *J. Food Prot.* 1990; 53: 81-91.
16. Pagotto F, Daley E, Farber J, Warburton D. Isolation of *Listeria monocytogenes* of all food and environmental samples. En: *Compendium of Analytical Methods*. Vol.3. Se consigue em: URL: <http://www.hc-sc.gc.ca/food-aliment/english/publications/compendium/index.html>
17. Garthright WE. Most Probable Number from Serial Dilutions In: *Bacteriological Analytical Manual – FDA 8th Ed. Revision A – AOAC International, USA, Appendix 2, 1998.*
18. Vorster SM, Greebe RP, Nortjé GL. The incidence of *Listeria* in processed meats in South Africa. *J Food Prot.* 1993; 56: 169-72.
19. Levine P, Rose B, Green S, Ranson G, Hill W. Pathogen testing of ready-to-eat meat and poultry products collected at federally inspected establishments in the United States, 1990 to 1999. *J Food Prot.* 2001; 64: 1188-93.
20. Borges MF, Siqueira RS, Bittencourt AM, Vanetti MCD, Gomide LAM. Occurrence of *Listeria monocytogenes* in salami. *Revista de Microbiologia* 1999; 30: 362-4.
21. Grau FH, Vanderlinde PB. Occurrence, numbers, and growth of *Listeria monocytogenes* on some vacuum-packaged processed meats. *J. Food Prot.* 1992; 55: 4-7.
22. Becker B, Trierweiler B, Fechner J, Holzapfel WH. Presence of *L. monocytogenes* in samples of cooked sausages. Proceedings of the XIV ISOPOL; 2001 May 13-16; Mannheim, Germany. p. 132-5.
23. Campillo JIG, Domínguez Fernández MC, Zumalacárregui Rodríguez JM. Incidencia de *Listeria monocytogenes* y *Escherichia coli* O157:H7 en carnes y productos carnicos comercializados en Castilla y Leon. *Alimentaria* 1999; Jun: 71-5.
24. Schmidt U, Kaya M. Bedeutung des Vorkommens von Listerien bei Fleisch und Fleischerzeugnissen. Apud: Becker B, Trierweiler B, Fechner J, Holzapfel WH. Presence of *L. monocytogenes* in samples of cooked sausages, Proceedings of the XIV ISOPOL; 2001 May 13-16; Mannheim, Germany. p. 132-5.
25. Farber JM, Sanders GW, Johnston MA. A survey of various foods for the presence of *Listeria* species. *J. Food Prot.* 1989; 52: 456-8.
26. Farber JM, Peterkin PI. *Listeria monocytogenes*, a foodborne pathogen. *Microbiol. Rev.* 1991; 55: 476-511.
27. Nissen H, Holck A. Survival of *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* kentucky in Norwegian fermented, dry sausage. *Food Microbiol.* 1998; 15: 273-9.
28. Campaninni M, Pedrazzoni I, Barbuti S, Baldini P. Behavior of *Listeria monocytogenes* during the maturation of naturally and artificially contaminated salami: effect of lactic-acid bacteria starter cultures. *Int. J. Food Microbiol.* 1993; 20: 169-75.
29. Lahti E, Johansson T, Honkanen-Buzalski T, Hill P, Nurmi E. Survival and detection of *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* during the manufacture of dry sausage using two different starter cultures. *Food Microbiol.* 2001; 18: 75-85.
30. Uyttendaele M, De Troy P, Debevere J. Incidence of *Listeria monocytogenes* in diferents types of meat products on the Belgian retail market. *Int. J Food Microbiol.* 1999; 53: 75-80.

Recibido: 24-04-2002

Aceptado: 29-10-2002

Cambios físico-químicos del almidón durante la nixtamalización del maíz en variedades con diferente dureza de grano

Salinas Moreno Y, Herrera Corredor J.A, Castillo Merino J. y Pérez Herrera. P.

CEVAMEX. Departamento de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Autónoma, Chapingo – México

RESUMEN. El objetivo de la presente investigación fue evaluar las modificaciones que sufre el almidón durante el proceso de nixtamalización en dos genotipos de maíz con diferente dureza de grano. La caracterización de los almidones extraídos del grano crudo y nixtamalizado de los genotipos de maíz duro y suave, incluyó la evaluación del color (L, a y b), pH, viscosidad, absorción de agua, solubilidad, capacidad de hinchamiento y análisis térmico (por calorimetría diferencial de barrido). En los almidones estudiados se observó que con el proceso de nixtamalización, el pico de viscosidad máximo, la capacidad de hinchamiento a 90°C y la temperatura en que se presenta el pico máximo de transición endotérmica disminuyeron, mientras que la solubilidad se incrementó. El almidón del maíz duro nixtamalizado, presentó una temperatura de inicio de gelatinización (TIG) mayor que la observada en el correspondiente almidón de maíz crudo. De los genotipos evaluados, el almidón del maíz duro fue modificado en mayor grado por la nixtamalización que el del suave, aún cuando el tiempo de cocimiento fue el óptimo para cada uno de los genotipos.

Palabras clave: *Zea mays*, almidón, nixtamalización, gelatinización.

SUMMARY. Physicochemical changes in corn starch during alkaline-cooking in varieties with different kernel hardness. Changes in starch characteristics caused by alkaline-cooking in two corn genotypes (hard and soft) were studied in the present work. Color, pH, pasting properties (Brabender viscoamylograph), water sorption, solubility, swelling power and thermal analysis (Differential scanning calorimetry) were determined in starches previously extracted, from raw and alkaline-cooked hard and soft corns. A reduction in maximum viscosity peak, temperature at the endothermic peak and swelling power at 90°C, and an increase in solubility was observed in starches obtained from both hard and soft corn after alkaline-cooking. Starch from hard corn showed an increment in initial pasting temperature after alkaline-cooking. Alkaline-cooking induced higher modifications in hard than in soft corn starch, probably as a result of its endosperm type and grain hardness, although optimum cooking times were used for each corn genotype.

Key words: *Zea mays*, starch changes, alkaline-cooking, gelatinization.

INTRODUCCION

Con el proceso de nixtamalización ocurren una serie de cambios en los componentes del grano de maíz que contribuyen a darle las características propias de textura a la masa y tortilla. Siendo el almidón el componente mayoritario en este cereal, las modificaciones que sufra repercutirán de manera importante en las propiedades de la tortilla, la cual presenta una red estructural formada por los gránulos de almidón fundidos durante el cocimiento (1).

Anteriormente se creía que durante la nixtamalización, una gran parte de los almidones eran gelatinizados (2), sin embargo hoy, con el uso de técnicas más modernas se sabe que sólo una porción pequeña, que no sobrepasa el 15% es la que se gelatiniza (1,3).

Asociados con la gelatinización, se presentan en el almidón otros cambios tales como: pérdida de la birrefringencia y cristalinidad del gránulo, modificación del patrón de rayos X, e incremento en la solubilidad (3). Sobre este último aspecto se ha observado que la masa de maíz

contiene menos de 10% de sólidos solubles, de los cuales entre el 30% y 50% es almidón solubilizado, en el que predomina la amilopectina de bajo peso molecular (4). El tiempo de cocimiento afecta la cantidad de sólidos solubles y almidón solubilizado; al aumentarlo, los sólidos solubles y el almidón solubilizado decrecen, como consecuencia de la retrogradación que este último sufre durante el reposo y enfriamiento después de la molienda (3,4).

Por otro lado, la dureza del grano determina en gran medida el tiempo de nixtamalización requerido por un maíz para obtener una masa con características de calidad adecuadas para preparar tortillas, de manera que los maíces duros requieren tiempos de cocimiento más largos que los suaves (5).

En los maíces duros, el acceso del agua y los agentes gelatinizantes hacia el gránulo de almidón se dificulta más que en los maíces suaves, por encontrarse embebidos en una densa matriz proteínica y completamente rodeados por numerosos cuerpos de zeína, lo que le confiere al endospermo una estructura sólida y compacta (6). Al prolongar el tiempo

de cocimiento en estos maíces, se busca lograr la parcial gelatinización de los almidones que permita que la masa adquiera las propiedades de adhesividad y cohesividad necesarias para poder elaborar las tortillas, por lo que los tiempos asignados deben ser los adecuados para permitir que cada maíz exprese su máximo potencial en la elaboración de tortillas.

Se ha señalado que la viscosidad óptima en una masa para la preparación de tortillas es entre 200 y 240 unidades Brabender (7); sin embargo, no se ha precisado si estos valores deben mantenerse independientemente de la dureza del maíz, o si cada material, con base en sus características propias, presenta un valor particular, con el cual se obtienen tortillas de mejor calidad.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar las modificaciones que sufre el almidón de maíces con diferente dureza de grano, al ser nixtamalizados con su tiempo óptimo de cocimiento.

MATERIALES Y METODOS

En el estudio se emplearon los maíces cacahuacintle y la línea experimental TL92B 6781 8662Q, con grano de endospermo suave y duro respectivamente.

La extracción del almidón de maíz crudo se efectuó siguiendo la metodología de Watson y Hirata (8), que simula el proceso de molienda húmeda, empleando una solución de ácido láctico y dióxido de azufre a pH 3 y temperatura de 48°C, realizando posteriormente la molienda en un molino de piedras.

Para obtener el almidón de maíz nixtamalizado, los maíces se cocieron en una solución de hidróxido de calcio al 1% por un tiempo de 20 minutos el suave y 45 minutos el duro. El tiempo de nixtamalización de cada genotipo se calculó con base a la dureza del grano evaluada mediante el índice de flotación y empleando un modelo matemático que relaciona la dureza del grano con el tiempo óptimo de nixtamalización (5). Después del reposo, que duró aproximadamente 18 horas, a las muestras se les eliminó la solución de cocimiento (nejayote) y se enjuagaron ligeramente para posteriormente molerlas en el molino empleado en las muestras crudas (molino de piedras). La separación del almidón se realizó de acuerdo con lo descrito por Watson y Hirata (8).

Los almidones tanto crudos como nixtamalizados se secaron en estufa a 45°C por 48 horas y finalmente se disgregaron con ayuda de un mortero.

La caracterización del almidón de maíz crudo y nixtamalizado, se realizó determinando: color (L, a y b) por medio de un medidor de color de reflectancia Hunter Lab ajustado con un mosaico blanco de especificaciones L = 92.8, a = -0.9 y b = 1.2; pH, de acuerdo con la metodología 14.002 de la AOAC (9); índice de absorción de agua e índice de solubilidad a temperatura ambiente, según el método descrito

por Anderson *et al.* (10); capacidad de hinchamiento e índice de solubilidad a temperaturas de 60, 70, 80, y 90°C, que cubren el rango de temperatura en el cual se lleva a cabo la gelatinización del almidón de acuerdo a lo descrito por Leach *et al.* (11); viscosidad, por medio del viscoamilógrafo Brabender, utilizando una suspensión de almidón al 8.6%; y análisis térmico, con un calorímetro diferencial de barrido Dupont 2000 empleando un peso de muestra de 5 mg con una humedad de 5% y un rango de temperatura de 0 - 200 °C.

Todas las determinaciones se realizaron por duplicado, a excepción del análisis calorimétrico del almidón que se efectuó con una sola repetición.

Con los datos obtenidos se realizó análisis de varianza y pruebas de comparación de medias, cuando fue procedente, según Tukey ($\alpha=0.05$).

RESULTADOS Y DISCUSION

Color

El valor de reflectancia "L" fue estadísticamente igual para los almidones de maíz crudo (AMCs) de los genotipos estudiados (Tabla 1). En los almidones de maíz nixtamalizado (AMNs) esta variable mostró un ligero descenso, evidenciando menor blancura que la observada en los almidones de maíz crudo, producto de las reacciones de oscurecimiento no enzimático que tienen lugar durante la nixtamalización, principalmente la de tipo Maillard, la cual se favorece a pH alcalino (12). En cuanto a la tonalidad de rojo (+a) a verde (-a), los valores se inclinaron hacia el verde, tanto en los almidones de maíz crudo como nixtamalizado. Los AMCs de los genotipos duro y suave tuvieron la misma tonalidad (a), mientras que en los AMNs, el del maíz duro (AMDN) presentó una tonalidad más verdosa.

TABLA 1
Características físicas de los almidones de maíz crudo y nixtamalizado extraídos de genotipos con diferente dureza de grano

Almidón	Color			pH
	L	a	b	
AMDC	98.4 b	-0.50 a	0.8 a	4.94 a
AMDN	97.3 a	-0.63 b	3.0 d	6.99 d
AMSC	98.5 b	-0.50 a	1.2 b	5.25 b
AMSN	97.7 a	-0.50 a	2.6 c	6.65 c

* Valores en la misma columna con la misma letra, son estadísticamente iguales ($\alpha = 0.05$)

AMDC. Almidón de maíz duro crudo AMDN. Almidón de maíz duro nixtamalizado

AMSC. Almidón de maíz suave crudo AMSN. Almidón de maíz suave nixtamalizado

Dentro de los niveles de amarillo (+b) a azul (-b), los almidones de maíz tanto crudo como nixtamalizado se orientaron hacia el amarillo, apreciándose diferencias significativas entre los AMCs, dentro de los cuales el tono más amarillo fue para el almidón de maíz crudo extraído del genotipo suave (AMSC). Los AMNs tuvieron un valor de "b" superior al de los AMCs; siendo el almidón obtenido del maíz duro nixtamalizado (AMDN) el que mostró la tonalidad más amarilla.

pH

Los valores de pH obtenidos en los AMCs de los maíces duro y suave fueron menores y estadísticamente diferentes a los observados en los AMNs (Tabla 1). Tales diferencias provienen de las condiciones en que se acondicionó el grano previo a la molienda y extracción. En el caso de los AMCs, la solución de maceración tenía un pH inicial de 3.0, por lo que esta etapa se realizó en medio ácido, mientras que en los AMNs, la nixtamalización del grano se realizó en medio alcalino (pH inicial de 12.5).

Viscosidad

En la Tabla 2 se concentran los resultados de los viscoamilogramas practicados a los almidones estudiados. Se puede apreciar que la temperatura de inicio de gelatinización (TIG) fue estadísticamente igual entre los AMCs. En el almidón del maíz suave, la nixtamalización no tuvo efecto sobre esta variable pues los valores en el almidón de maíz crudo y nixtamalizado fueron estadísticamente iguales, mientras que en el almidón del maíz duro, la TIG fue estadísticamente mayor en el almidón obtenido del grano nixtamalizado con respecto al del grano crudo.

TABLE 2
Datos de los viscoamilogramas realizados en los almidones de maíz crudo y nixtamalizado extraídos de genotipos con diferente dureza de grano

Almidón	TIG (°C)	PMV (Unidades Brabender)	VTC	VF
AMDC	70.5 a	790 c	730 c	1205 b
AMDN	73.0 b	590 a	560 a	995 a
AMSC	71.5 a	800 c	710 c	1260 b
AMSN	71.5 a	760 b	660 b	1210 b

* Valores en la misma columna con la misma letra, son estadísticamente iguales ($\alpha=0.05$)

TIG. Temperatura de inicio de gelatinización

PMV. Pico de viscosidad máxima

VTC. Viscosidad a temperatura constante

VF. Viscosidad final a 50 °C

Se sabe que los gránulos de almidón en un mismo genotipo, pueden variar en su tamaño, composición y grado de cristalinidad, lo que provoca que unos sean más resistentes que otros a los factores gelatinizantes del medio (13). Con la nixtamalización se gelatinizan los gránulos más susceptibles, que generalmente son los de mayor tamaño, permaneciendo los más resistentes prácticamente sin modificar (6).

El tiempo de nixtamalización empleado en el genotipo duro fue de aproximadamente el doble del utilizado para el genotipo suave, por lo que el almidón estuvo sometido a las condiciones que promueven la gelatinización durante más tiempo, afectándose posiblemente en mayor intensidad a los gránulos más susceptibles, dando como resultado el aumento de la TIG del AMDN. En el AMSN, el menor tiempo de nixtamalización parece no haber provocado una modificación selectiva de los gránulos más sensibles que se viera reflejada en la modificación de la TIG.

El pico máximo de viscosidad (PMV) fue estadísticamente igual en los AMCs. El proceso de nixtamalización redujo el PMV en los AMNs extraídos de ambos genotipos, siendo esta reducción mayor en el almidón del maíz duro (200 UB) con relación al del maíz suave (40 UB). Un comportamiento similar se observó para la viscosidad a temperatura constante (VTC).

Con respecto a la viscosidad final (VF), se observó que los almidones de maíz crudo de ambos genotipos, presentaron valores estadísticamente iguales, mientras que en los nixtamalizados, sólo el AMDN mostró una disminución estadísticamente significativa de 210 UB, que representa una reducción en la viscosidad final de 17%.

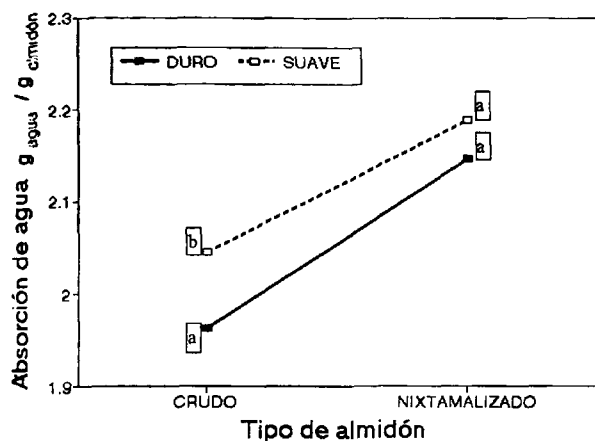
Índice de absorción de agua

En los almidones extraídos de los maíces crudos, el índice de absorción de agua (IAA) fue mayor para el del maíz suave (AMSC) con un valor de 2.04, en comparación al del maíz duro (AMDC), que presentó un valor de 1.96. Los AMNs tuvieron IAAs mayores a sus respectivos AMCs. Este índice aumentó 9.3% en el AMDN, mientras que en el AMSN el incremento fue de 6.8%, con relación a los IAAs obtenidos para los correspondientes almidones de maíz crudo (Figura 1).

El mayor IAA del almidón crudo extraído del genotipo de grano suave, en relación al extraído del genotipo de grano duro, podría deberse a diferencias en la composición del almidón en cada caso. El almidón de maíces de grano duro contiene una proporción más alta de amilosa que el de maíces de endospermo suave (14). En el almidón normal de cereales, la amilopectina parece estar asociada con la capacidad del gránulo de hincharse y absorber agua, en tanto que la amilosa inhibe esta propiedad (15). En el presente trabajo la capacidad de hinchamiento del almidón del maíz duro fue inferior a la observada en el almidón del maíz suave a una temperatura de 60°C (Figura 2).

FIGURA 1

Índice de absorción de agua en almidones de maíz crudo y nixtamalizado extraídos de genotipos con diferente dureza de grano



La diferencia del IAA entre los almidones nixtamalizados y los almidones crudos podría estar relacionado con el pH, ya que se ha observado que pHs elevados favorecen la capacidad del almidón para absorber y retener agua (16). En este trabajo, los almidones con pH más alto fueron los obtenidos a partir del grano nixtamalizado.

Solubilidad a temperatura ambiente

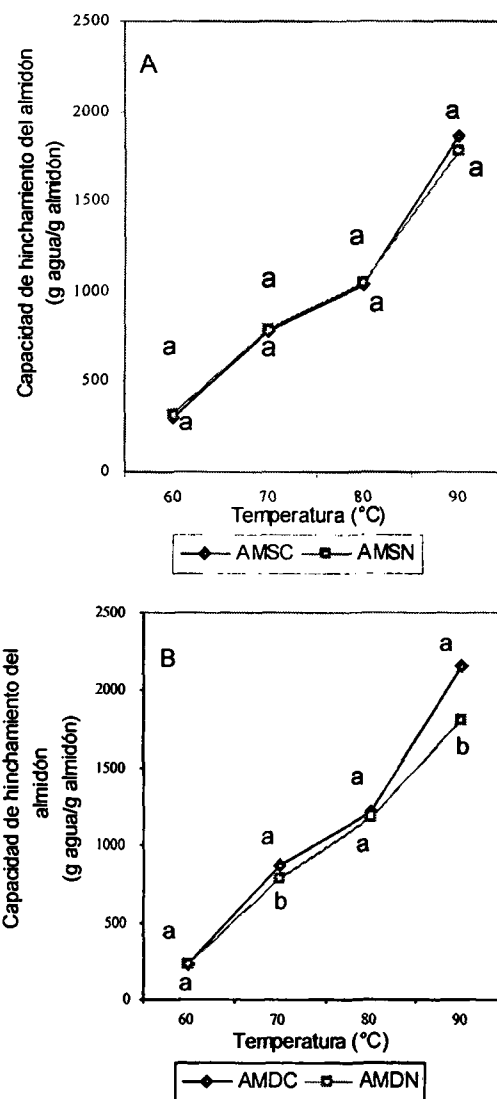
Los AMCs presentaron índices de solubilidad estadísticamente iguales a temperatura ambiente, con valores relativamente bajos, de 0.10% en el AMDC y 0.16% en el AMSC, que reflejan la baja solubilidad del almidón en agua fría. Este índice se incrementó considerablemente en los almidones extraídos de maíz nixtamalizado ya que el AMDN presentó un valor 20 veces mayor que el AMDC y el AMSN de 3 veces con relación al AMSC.

Capacidad de hinchamiento e índice de solubilidad

La capacidad de hinchamiento (CH), evaluada en un intervalo de temperaturas de 60 a 90°C se incrementó al aumentar la temperatura, tanto en los almidones de maíz crudo como nixtamalizados de ambas variedades (Figura 2). Esta propiedad del almidón no se vio afectada por la nixtamalización del grano ya que las curvas para los almidones crudo y nixtamalizado, a las temperaturas de 60, 70 y 80°C se sobreponen; sin embargo a 90°C se observaron diferencias en la CH entre el almidón de maíz crudo y nixtamalizado, extraídos del maíz duro. A esta temperatura el almidón de maíz crudo presentó mayor capacidad de hinchamiento.

FIGURA 2

Capacidad de hinchamiento de los almidones de maíz crudo y nixtamalizado extraídos de los genotipos de endospermo suave (A) y duro (B). Las letras dentro del gráfico indican los resultados de la comparación de medias por Tukey ($\alpha=0.05$)



AMSC: almidón de maíz suave crudo. AMSN: almidón de maíz suave nixtamalizado
AMDC: almidón de maíz duro crudo. AMDN: almidón de maíz duro nixtamalizado.

Con la nixtamalización, los gránulos de almidón son parcialmente gelatinizados e hinchados. Durante la molienda del nixtamal para la obtención de la masa, los gránulos hinchados son más susceptibles de sufrir cizallamiento o daño mecánico, alterando su integridad (3), fenómeno que puede

limitar su capacidad de absorción y retención de agua.

Se han reportado patrones de hinchamiento en almidón de sorgo, similares a los obtenidos en este trabajo, indicándose que el hecho de que no presenten una tendencia lineal se debe a la posible presencia de dos tipos de fuerzas asociativas en el gránulo de almidón que se relajan a diferentes temperaturas; además se menciona que la presencia de una red de moléculas lineales que interconecta a las micelas no afecta la temperatura de gelatinización, pero puede restringir el hinchamiento del gránulo (11).

El índice de solubilidad (IS), evaluado en el mismo intervalo de temperaturas que la CH, se incrementó al aumentar la temperatura de extracción, en los cuatro almidones estudiados (Figura 3). En los almidones del genotipo duro, la solubilidad tendió a estabilizarse después de los 80°C, en tanto que en los extraídos del genotipo suave, el valor de esta variable continuó ascendiendo, mostrando un incremento considerable entre los 80 y 90°C. Otros autores han informado resultados similares a los obtenidos en este trabajo con relación a la dependencia entre solubilidad y temperatura de extracción (3); sin embargo, no se tiene una explicación satisfactoria para las diferencias en solubilidad observadas entre los almidones extraídos del genotipo duro y suave a partir de los 80°C.

Los almidones de maíz crudo mostraron menor solubilidad que los nixtamalizados a las temperaturas de extracción empleadas. En el maíz duro, las diferencias en la solubilidad de los almidones extraídos del maíz crudo y nixtamalizado fueron mayores a las observadas en el maíz suave.

La nixtamalización y el reposo causan la liberación de amilosa e hinchamiento de los gránulos, aunque no en forma completa, ya que el endospermo representa una restricción física importante (3). El aumento de la solubilidad del almidón después del proceso de nixtamalización se debe a la presencia de polímeros de gránulos dañados e hinchados (3), siendo el soluto principal del almidón solubilizado la amilopectina, que se cree puede provenir de la ruptura de los gránulos durante la molienda (4).

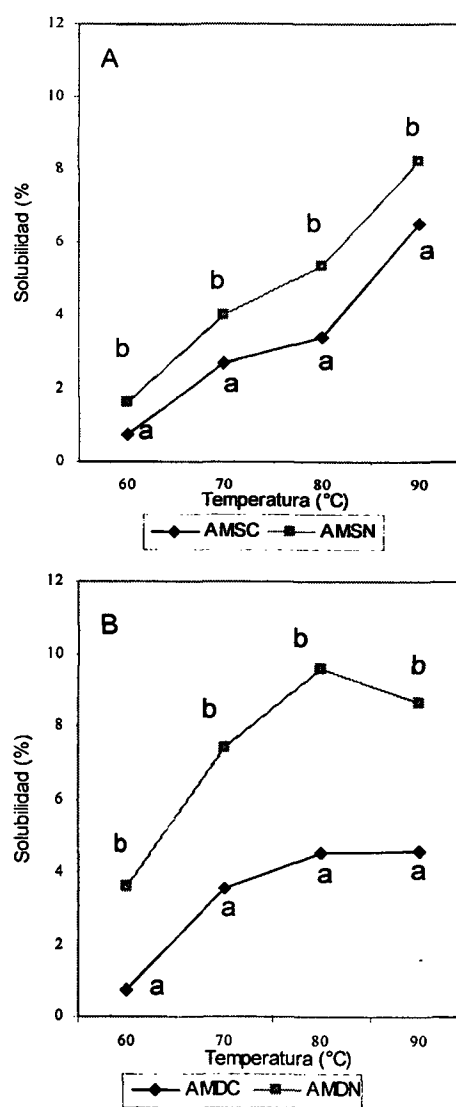
Calorimetría diferencial de barrido

Con ésta técnica se observó que los AMCs tuvieron una menor temperatura en el pico máximo del termograma (TPMT), que los AMNs. La TPMT en el AMDC fue de 84.27°C, en tanto que en el AMDN alcanzó los 98.02°C (Figura 4). En el caso del genotipo de endospermo suave la TPMT fue similar entre el almidón de maíz crudo (96.17°C) y el nixtamalizado (100.49°C) (Figura 5). Los resultados indican que la temperatura de gelatinización aumentó en los almidones de los maíces nixtamalizados, aunque en diferente magnitud para cada genotipo, mostrando correspondencia con los resultados del viscoamilógrafo, lo cual se atribuye a la gelatinización de gránulos de almidón con mayor resistencia, que no fueron afectados durante el proceso de nixtamalización. La presencia

del pico en los termogramas revela la existencia de gránulos de almidón nativos en la muestra, ya que con la nixtamalización sólo se gelatiniza una cantidad baja de almidón (15% aproximadamente), ocurriendo la mayor gelatinización del almidón durante el cocimiento de la tortilla, con la consecuente pérdida completa de la cristalinidad (1,4).

FIGURA 3

Indice de solubilidad de los almidones de maíz crudo y nixtamalizado extraídos de los genotipos de endospermo suave (A) y duro (B). Las letras dentro del gráfico indican los resultados de la comparación de medias por Tukey ($\alpha=0.05$)



AMSC: almidón de maíz suave crudo AMSN: almidón de maíz suave nixtamalizado
AMDC: almidón de maíz duro crudo AMDN: almidón de maíz duro nixtamalizado

FIGURA 4
Termogramas de los almidones crudo y nixtamalizado,
extraídos del maíz de endospermo duro

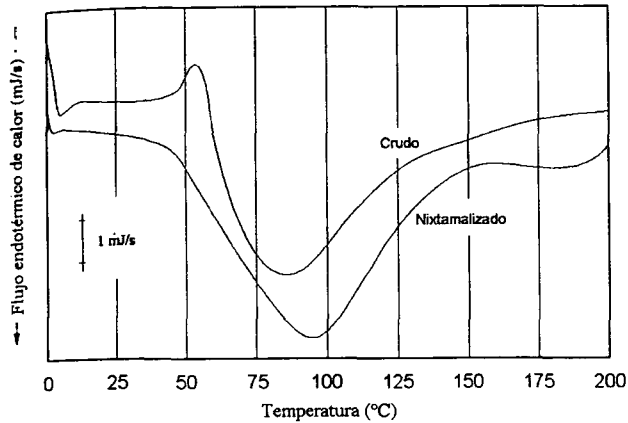
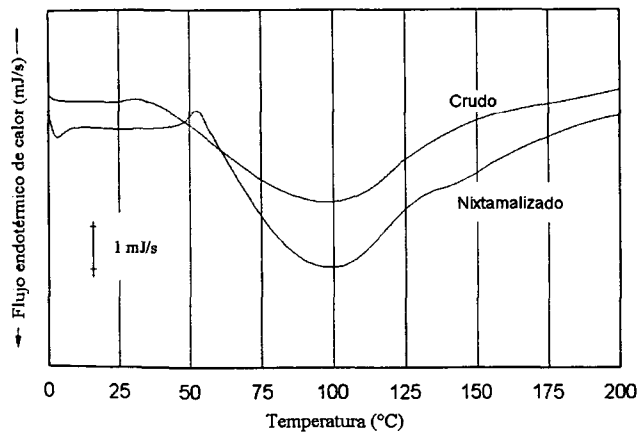


FIGURA 5
Termogramas de los almidones crudo y nixtamalizado,
extraídos del maíz de endospermo suave



La entalpía de gelatinización fue mayor en el AMDC (383 J/g) que en el AMDN (299.5 J/g), lo cual indica la presencia de una menor cantidad de gránulos nativos en este último. En contraste, entre los almidones del genotipo suave, el comportamiento no coincidió con lo esperado, ya que la entalpía de gelatinización del AMSC (207.9 J/g) fue menor que la del AMSN (290 J/g).

CONCLUSIONES

El almidón del maíz duro sufrió mayores modificaciones a causa de la nixtamalización que el almidón del maíz suave, probablemente como resultado del mayor tiempo de nixtamalización empleado en el primer caso y su consecuente efecto sobre los gránulos de almidón más sensibles a la

gelatinización, aún cuando el tiempo de nixtamalización para cada uno de los maíces se estableció con base en sus características de dureza.

REFERENCIAS

- Robles de la Torre RR. Cambios fisicoquímicos del almidón durante la nixtamalización del maíz. Tesis de maestría. ENCB-IPN. México. 1986.
- Trejo A, Feria A and Wild C. The role of alkaline treatment of corn for tortilla preparation. In: Modification of Proteins. Advances in Chemistry Ser. No. 198. Feeny RE and Whitaker JR, (eds). Am Chem. Soc., Washington, D.C. 1982; pp:245-263.
- Gómez MH, Waniska RD and Rooney LW. Effects of nixtamalization and grinding conditions on the starch in masa. Starch / Stärke. 1990; 42(12):475-482.
- Gómez MH, Lee LK, McDonough CM, Waniska RD and Rooney LW. Corn starch changes during tortilla and tortilla chip processing. Cereal Chem. 1992; 69(3): 275-279.
- Gomes HJ. Métodos comparativos para determinar dureza en maíz (*Zea mays* L.) y su influencia en el tiempo de nixtamalización. Tesis Licenciatura. Departamento de Ingeniería Agroindustrial. Universidad Autónoma Chapingo. México. 1993.
- Watson S A. Structure and composition. In: Corn: Chemistry and Technology. 1987. Watson SA and P. E. Ramstad (ed.). American Association of Cereal Chemists (AACC). St. Paul, MN., p:53-82.
- Bedolla S, and Rooney LW. Characteristics of US and mexican instant maize flours for tortilla and snack preparation. Cereals Food World. 1984; 29(11): 732-735.
- Watson SA and Hirata Y. The wet milling properties of grain sorghums. Agronomy Journal. 1954; 11-15.
- Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis. 14 th ed. The Association, Washington, D.C. 1984.
- Anderson RA, Connway HF, Pfeifer VF and GRIFFIN Jr., EL. Gelatinization of corn grits by role and extrusion cooking. Cereal Sci. Today. 1969;14(4): 4-12.
- Del Castillo MD, Corzo N and Olano A. Early stages of Maillard reaction in dehydrated orange juice. J. Agric. Food Chem. 1999. 47(10):4388-4390
- Tang H, Ando H, Watanabe K, Takeda Y, and Mitsunaga Y. Some physicochemical properties of small-, medium-, and large granule starches in fractions of waxy barley grain. Cereal Chem. 2000;77(1):27-31
- Dombrink-Kurtzman MA, and Knutson CA. A study of maize endosperm hardness in relation to amylose content and susceptibility to damage. Cereal Chem. 1997, 74(6):776-780
- Tester, RF, and Morrison WR.. Swelling and gelatinization of cereal starches. I. Effects of amylopectin, amylose, and lipids. Cereal Chem.1990, 67:551-557.
- Bryant C.M, and Hamaker B R. Effect of lime on gelatinization of corn flour and starch. Cereal Chem. 1997, 74(2):171-175
- Leach HW, McCowen LD and Schoch TJ. Structure of starch granule; I. Swelling and solubility patterns of various starches. Cereal Chem. 1959; 36(6): 534-544.

Recibido: 13-05-2002

Aceptado: 10-01-2003

Producción y caracterización parcial de β -galactosidasa de *Kluyveromyces lactis* propagada en suero de leche desproteínizado

Alejandra O. Ramírez Matheus y Nilo Rivas R.

Instituto de Química y Tecnología, Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela.

RESUMEN. El objetivo de ésta investigación fue el optimizar la producción de β -galactosidasa por *Kluyveromyces lactis*, a través de la Metodología de Superficie de Respuesta (MSR), utilizando el suero lácteo desproteínizado como medio de fermentación. Se empleó un Diseño Compuesto Central Ortogonal (DCCO) sin repetición, con cuatro factores: temperatura, pH, velocidad de agitación y tiempo de la fermentación, y como variable respuesta la actividad enzimática (U/ml). Treinta pruebas, fueron realizadas de acuerdo al DCCO, desglosadas en veinte y cinco tratamientos, con seis repeticiones del punto central, en un fermentador New Brunswick BioFlo 2000 con un volumen de trabajo de 2 litros. El suero desproteínizado por termocoagulación fue analizado químicamente, obteniendo los siguientes resultados: humedad 93,83%, sólidos totales 6,17%, proteína 0,44%, lactosa 4,85%, acidez 0,43% y pH 4,58. Para establecer los valores óptimos de cada factor en la producción de la enzima, se realizó el análisis estadístico, obteniendo las siguientes condiciones de operación: temperatura 30,3 °C, pH 4,68, velocidad de agitación 191 r.p.m. y tiempo de fermentación 18,5 horas, logrando una producción de enzima de 8,3 U/ml. Se realizó la purificación parcial de la enzima con acetona, logrando un rendimiento de 50,8% y una purificación de 7,4 veces. La enzima purificada tuvo una temperatura óptima de 60°C y un pH de 6,2. En conclusión es posible producir la enzima β -galactosidasa con la levadura *Kluyveromyces lactis* propagada en suero desproteínizado, y además la MSR puede ser utilizada en la optimización de condiciones de operación en procesos microbiológicos.

Palabras clave: Suero, β -galactosidasa, *Kluyveromyces lactis*, metodología de superficie de respuesta.

SUMMARY. Production and partial characterization of β -galactosidase from *Kluyveromyces lactis* grown in deproteinized whey. The purpose of this work was to optimize the β -galactosidase production by *Kluyveromyces lactis*, applying the Surface Response Methodology (SRM) and using deproteinized whey as fermentation medium. An Orthogonal Central Compound Design (OCCD) was used without repetition, with four factors: temperature, pH, agitation speed and fermentation time. Then, enzyme activity (U/ml) as response variable was used. Thirty trials in twenty-five treatments, with six repetitions at the central point, were carried out, in a New Brunswick Bioflo 2000 fermentor with a volume of 2 liters. The deproteinized whey obtained by thermocoagulation was chemically analyzed. The results were: moisture 93,83%, total solids 6,17%, protein 0,44%, lactose 4,85%, acidity 0,43% and pH 4,58. The best conditions in the enzyme production were: temperature 30,3 °C, pH 4,68, agitation speed 191 r.p.m. and fermentation time 18,5 h. with an enzyme production of 8,3 U/ml. The degree of purification obtained was 7,4 times and the yield was 50,8%. The purified enzyme had an optimum temperature of 60 °C and a pH of 6,2. This work shows that the yeast *Kluyveromyces lactis* grown in deproteinized whey is able to produce the enzyme β -galactosidase and SRM can be used in the fermentology processes, specifically in determining the best suitable operation conditions.

Keys word: Whey, β -galactosidase, *Kluyveromyces lactis*, surface response methodology.

INTRODUCCION

La producción de β -galactosidasa o lactasa (EC.3.2.1.23), a partir de microorganismos como hongos, bacterias o levaduras utilizando suero lácteo como medio de fermentación, ha despertado gran interés, así como también el uso de esta enzima en la industria de alimentos (1-5). La lactasa causa la hidrólisis de la lactosa, hasta sus componentes principales glucosa y galactosa, produciéndose un producto de mayor dulzor, debido a las propiedades de los

monosacáridos formados, lo que permite usar la lactosa como edulcorante. Los jarabes obtenidos de esta hidrólisis han servido de sustitutos del jarabe de maíz o sacarosa en las industrias de repostería, panadería, heladería y otras (6); además se ha comprobado que la adición de lactasa a productos lácteos como leche, yoghurt, crema agria y mantequilla, mejora el sabor sin que ocurra un incremento calórico significativo, incrementa el poder edulcorante, y favorece el consumo humano en individuos con intolerancia a la lactosa (4,6). La hidrólisis enzimática de la lactosa del

suero, es una técnica sencilla que permite el aprovechamiento de este subproducto de la industria láctea, el cual se ha convertido en un grave problema de contaminación ambiental, debido a que generalmente se descarga a ríos y desagües (7). Se estima que cada kg de queso producido genera 9 kg de suero y que anualmente se producen a nivel mundial 9.000.000 t de queso; esto representaría aproximadamente 85 millones de t de suero, considerado como producto de desecho (8). En consecuencia la necesidad de reducir esta contaminación, prohibiendo la práctica de verter el suero a ríos y desagües, aunado al alto potencial nutritivo de este subproducto, han conducido a la realización de estudios tecnológicos para un mejor aprovechamiento del mismo, y dada la importancia que tiene la enzima lactasa en la industria de alimentos, en esta investigación se plantea la optimización del proceso de producción de β -galactosidasa de *Kluyveromyces lactis* crecida en suero de leche desproteínizado, a través de la Metodología de Superficie de Respuesta (MSR).

MATERIALES Y METODOS

Se utilizó el suero proveniente de la Planta de Lácteos de la Facultad de Ciencias Veterinarias UCV, ubicada en la ciudad de Maracay-Edo. Aragua. El cultivo usado en la fermentación fue la levadura *Kluyveromyces lactis*, cepa N° 30.841, donada por el cepario del Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel". Las células de esta levadura fueron mantenidas en cuñas de 2% de agar y 1% de extracto de malta a 4°C, con transferencias mensuales.

Preparación del suero desproteínizado

Para lograr separar las proteínas del suero se aplicó un tratamiento termoácido, el cual consistió en ajustar el pH a 4,6 con ácido acético y posteriormente aplicar calor (90°C por 15 minutos), para así precipitar las proteínas y además pasteurizar el medio. El suero se dejó reposar, luego se realizó una filtración al vacío utilizando papel de filtro (Wathman N°1) y se conservó refrigerado.

Análisis químicos del suero desproteínizado

Al suero desproteínizado se le determinó la humedad, acidez, pH y nitrógeno total, según los métodos descritos en el A.O.A.C (9). La lactosa se determinó mediante el método de Somogy (10).

Producción de la enzima

.- Suplementación del medio de cultivo:

El suero fue suplementado con la adición de 0,15% de extracto de levadura y 0,1% de $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$, según lo recomendado por Sánchez y Castillo (3).

.- Inóculo:

El medio usado para preparar el inóculo fue el suero

desproteínizado y suplementado. Se colocaron 140 ml de este suero en fiolas de 500 ml, se le ajustó el pH a 5 y se esterilizó a 120°C x 10 min. Una vez enfriado se le agregó el contenido celular crecido, durante 24 horas a 30°C en cuña de agar/extracto de malta, arrastrado con 10 ml de caldo extracto de malta; las fiolas se incubaron a 30°C por 18 horas, con agitación, esto garantizó una población microbiana alrededor de 10^7 células/ml.

.- Condiciones del cultivo:

En el proceso de producción de la lactasa, se utilizó un fermentador marca New Brunswick modelo BioFlo 2000 modular con una capacidad de 2 l. Para lo cual 1350 ml de suero desproteínizado y suplementado se esterilizaron a 120°C x 10 min., en el mismo recipiente del fermentador, posteriormente se le agregó 150 ml de inóculo, obteniendo un volumen total de trabajo de 1,5 l. Las variables a considerar fueron: pH, temperatura, velocidad de agitación y tiempo de fermentación a una tasa de aireación de 0,5 vvm. Se utilizó un diseño factorial de dos niveles, para los cuatro factores antes mencionados, es decir un factorial 2^4 . Con la finalidad de describir la naturaleza de la superficie de respuesta en la región del óptimo, se utilizó un diseño compuesto central ortogonal empleando cinco niveles de cada factor ($-\alpha, -1, 0, 1$ y α), como lo describe la literatura revisada (11); el cual básicamente consistió en un diseño factorial 2^k , donde $k=4$ ($2^4=16$), con ocho puntos estrellas $2k$ ($2 \times 4=8$) y seis (6) repeticiones de los puntos centrales ($N^\circ=6$), dando un total de treinta (30) tratamientos, los cuales siguieron el orden establecido en la matriz de diseño codificada que se muestra en la Tabla 1. En la Tabla 2 se muestran los valores reales de pH, temperatura (°C), velocidad de agitación (r.p.m.) y tiempo de fermentación (horas), para poder establecer las condiciones de trabajo para cada tratamiento, los rangos de las variables empleadas, se establecieron de acuerdo a la literatura revisada siendo los siguientes: temperatura: 27 - 35°C, pH: 4 - 7, velocidad de agitación: 100 - 200 r.p.m y tiempo de fermentación: 12 - 24 horas.

Ensayo de actividad enzimática y determinación de proteína

Los ensayos de actividad enzimática se realizaron según la metodología indicada por Sánchez y Castillo (3), utilizando ONPG como sustrato. La actividad enzimática fue definida como la cantidad de enzima necesaria para producir un μmol de ONP en 1 min., bajo las condiciones descritas. El contenido proteico del extracto enzimático se llevó a cabo mediante el método colorimétrico de Lowry *et al.*, (12), utilizando albúmina de suero de bovino.

Extracción de la enzima

Las células cosechadas por centrifugación (10.000 r.p.m por 10 min.) y lavadas con agua destilada, fueron

resuspendidas en buffer fosfato de potasio 0,1 M pH 7, suplementado con 0,5 mM MgSO₄ y 0,1 mM MnCl₂. a esta suspensión se le adicionó tolueno al 2% (v/v) como solvente orgánico, durante 16 horas a 37 °C para causar la permeabilización de las células (13).

Purificación de la enzima

Se realizó una purificación parcial de la enzima, como lo describen Goncalves y Castillo (1) una vez incubada la suspensión con tolueno 2% (v/v), ésta se centrifugó a 10.000 r.p.m. x 20 min., descartándose el precipitado. Un volumen igual de acetona se adicionó al sobrenadante a 4°C, el precipitado formado se colectó por centrifugación a 10.000 r.p.m. x 20 min., y luego de la evaporación de la acetona residual fue disuelto en el buffer fosfato de potasio 0,1 M utilizado en la extracción. A esto se le denominó extracto purificado.

TABLA 1

Matriz del Diseño Compuesto Central Ortogonal a utilizar en la optimización del proceso de producción de lactasa por *Kluyveromyces lactis* en suero desproteínizado

Tratamiento	X1	X2	X3	X4
1	-1	-1	-1	-1
2	1	-1	-1	1
3	-1	-1	1	-1
4	-1	-1	1	1
5	-1	1	-1	-1
6	-1	1	-1	1
7	-1	1	1	-1
8	-1	1	1	1
9	1	-1	-1	-1
10	1	-1	-1	1
11	1	-1	1	-1
12	1	-1	1	1
13	1	1	-1	-1
14	1	1	-1	1
15	1	1	1	-1
16	1	1	1	1
17	-α	0	0	0
18	α	0	0	0
19	0	-α	0	0
20	0	α	0	0
21	0	0	-α	0
22	0	0	α	0
23	0	0	0	-α
24	0	0	0	α
25	0	0	0	0
26	0	0	0	0
27	0	0	0	0
28	0	0	0	0
29	0	0	0	0
30	0	0	0	0

X1= Temperatura de fermentación. 1er. Factor

X2= pH. 2do. Factor

X3= Velocidad de agitación del medio. 3er. Factor

X4= Tiempo de fermentación. 4to. Factor.

α = 1,7178

TABLA 2

Tratamientos utilizados en el establecimiento del Diseño Compuesto Central Ortogonal para la optimización del proceso de producción de lactasa por *Kluyveromyces lactis* en suero desproteínizado

Tratamiento	Temperatura (° C)	pH	Velocidad de agitación (r.p.m)	Tiempo (h)
1	28,7	4,6	121	14,5
2	28,7	4,6	121	21,5
3	28,7	4,6	179	14,5
4	28,7	4,6	179	21,5
5	28,7	6,4	121	14,5
6	28,7	6,4	121	21,5
7	28,7	6,4	179	14,5
8	28,7	6,4	179	21,5
9	33,3	4,6	121	14,5
10	33,3	4,6	121	21,5
11	33,3	4,6	179	14,5
12	33,3	4,6	179	21,5
13	33,3	6,4	121	14,5
14	33,3	6,4	121	21,5
15	33,3	6,4	179	14,5
16	33,3	6,4	179	21,5
17	27,0	5,5	150	18,0
18	35,0	5,5	150	18,0
19	31,0	4,0	150	18,0
20	31,0	7,0	150	18,0
21	31,0	5,5	100	18,0
22	31,0	5,5	200	18,0
23	31,0	5,5	150	12,0
24	31,0	5,5	150	24,0
25	31,0	5,5	150	18,0
26	31,0	5,5	150	18,0
27	31,0	5,5	150	18,0
28	31,0	5,5	150	18,0
29	31,0	5,5	150	18,0
30	31,0	5,5	150	18,0

Efecto de la temperatura y el pH sobre la enzima

Se estudió el efecto del pH en un rango de 5 a 8 y de la temperatura en un rango de 30 a 60°C, sobre la actividad enzimática, a través de la metodología descrita por Sánchez y Castillo (3), utilizando también ONPG como sustrato.

Análisis estadísticos

La variable respuesta analizada fue la actividad enzimática de los extractos crudos obtenidos en los distintos tratamientos; esta variable se analizó siguiendo los pasos de la Metodología de Superficie de Respuesta:

.-Análisis de varianza:

Se utilizó para establecer si existen diferencias o no entre los tratamientos y también para determinar la variabilidad debida al error experimental.

.-Análisis de la regresión:

Para los efectos lineales, cuadráticos y cruzados de los factores que tuvieron influencia sobre la variable respuesta.

.-Establecimiento del modelo de regresión:

Para establecer el modelo de regresión de la variable respuesta, se consideraron los coeficientes de regresión estimados en el análisis de regresión.

.-Análisis canónico de la superficie de respuesta:

Para caracterizar la superficie en la vecindad inmediata del punto estacionario, es decir determinar si éste es un punto de respuesta máxima, mínima o punto de silla.

.-Análisis de Ridge:

En caso tal que el punto estacionario resultó ser un punto de silla, este análisis permitió estimar los niveles de cada factor para obtener la respuesta óptima.

RESULTADOS Y DISCUSION

Caracterización química del suero desproteínizado

El suero desproteínizado empleado como sustrato de la fermentación fue analizado para determinar su composición (Tabla 3); se encontró que presenta un 93,83% de humedad, 6,17% de sólidos totales, 0,44% de proteína, 4,85% de lactosa, 0,43% de acidez y un pH de 4,58. El contenido de humedad fue inferior y el de sólidos totales y proteína mayor, a los encontrados por otros autores en permeado de suero dulce (14,15) y en suero desproteínizado (5). No obstante el contenido de lactosa aunque es similar al indicado en permeado de suero dulce (14), es inferior al reportado en suero desproteínizado (5). Estas diferencias pueden deberse tanto a la técnica utilizada en la separación de proteínas, como a la materia prima, ya que autores utilizan la ultrafiltración y permeado de suero dulce (14) mientras que otros la termocoagulación y suero reconstituido en una proporción de 60 g/L (5). Con respecto al pH, se observan valores similares a los reportados por la literatura revisada (5,15), no así la acidez, la cual tuvo un valor intermedio a lo informado en la mencionada literatura (5,15) quizás esta diferencia es debida a la acidificación sufrida por el suero durante el proceso de separación proteica.

TABLA 3

Caracterización química del suero desproteínizado

Característica	X	Valor Mínimo	Valor máximo	σ	C.V
%Humedad	93,83	92,62	96,56	1,05	1,12
%Sólidos totales	6,17	3,44	7,38	1,05	17,01
%Proteína	0,44	0,37	0,49	0,03	6,81
% Lactosa	4,85	3,80	5,65	0,59	12,16
%Acidez	0,43	0,30	0,58	0,09	20,93
pH	4,58	4,50	4,62	0,04	0,87

Optimización del proceso de producción de β -galactosidasa por *Kluyveromyces lactis*, aplicando la metodología de Superficie Respuesta y utilizando un Diseño Compuesto Central Ortogonal

Una vez realizadas las 30 pruebas establecidas en el diseño experimental que se mostró en la Tabla 2, se obtuvo el extracto enzimático correspondiente a cada tratamiento, al cual se le procedió a determinar la actividad enzimática (U/ml), concentración proteica y actividad enzimática específica (U/mg), los resultados se muestran en la Tabla 4. Los valores de actividad enzimática, concentración proteica y actividad enzimática específica de los extractos en los diferentes tratamientos, estuvieron comprendidos entre 1,29 y 7,43 (U/ml), 0,68 y 1,84 (mg/ml) y entre 0,82 y 7,72 (U/mg), respectivamente; siendo estos valores similares a los encontrados por otros autores (17) con esta misma levadura, pero inferiores a los reportados con las levaduras *Kluyveromyces fragilis* (3,13) y *Kluyveromyces marxianus* (1). Al parecer la producción de lactasa, utilizando suero de leche desproteínizado como medio de fermentación, es mayor por las levaduras *K. fragilis* y *K. marxianus*, que por la levadura bajo estudio, por supuesto esto está vinculado a las condiciones de temperatura, velocidad de agitación del medio y tiempo de fermentación, utilizadas en cada investigación.

Análisis estadísticos

.- Análisis de varianza

De acuerdo al análisis de varianza, se observa que existen diferencias altamente significativas entre los tratamientos, es decir los cambios observados en la cantidad de enzima producida, se deben a los tratamientos, por lo cual se justifica la optimización de las condiciones del proceso a través de esta variable respuesta. Además los valores de la respuesta presentaron una moderada variabilidad con un coeficiente de variación de 25,2%, lo cual es de esperarse en este tipo de ensayo donde son muchos los factores a controlar. En cuanto a la regresión, ésta también es altamente significativa así como los efectos lineales de temperatura, pH, velocidad de agitación y tiempo de fermentación; sin embargo se aprecia que los efectos cuadráticos puros y cuadráticos cruzados son significativos, es decir que todos o algunos de estos factores considerados están relacionados con la variable respuesta. El coeficiente de regresión (R^2) fue de 0,8715 lo cual indica confiabilidad en la respuesta estimada, debido a que el 87,15% de los valores se ajustan al modelo de regresión planteado. La falta de ajuste resultó altamente significativa, lo que indica un sesgo en la respuesta estimada, es decir que algunos efectos importantes pudieron no haber sido considerados en el modelo polinomial cuadrático y/o que otras variables independientes necesitan ser incluidas en el modelo. Esto puede estudiarse a futuro.

TABLA 4
Actividad enzimática, concentración proteica y actividad enzimática específica
de los extractos enzimáticos

Tratamiento	Temperatura (°C)	Ph	Velocidad de agitación (r.p.m)	Tiempo (h) (U/ml)	Actividad enzimática. (U/mg)	Proteína (mg/ml)	Actividad enz específica.
1	28,7	4,6	121	14,5	5,74	1,26	4,55
2	28,7	4,6	121	21,5	2,24	0,73	3,07
3	28,7	4,6	179	14,5	8,50	1,10	7,72
4	28,7	4,6	179	21,5	7,37	1,44	5,12
5	28,7	6,4	121	14,5	1,99	1,65	1,21
6	28,7	6,4	121	21,5	3,59	0,68	5,28
7	28,7	6,4	179	14,5	1,29	1,57	0,82
8	28,7	6,4	179	21,5	3,09	1,42	2,18
9	33,3	4,6	121	14,5	3,64	0,70	5,20
10	33,3	4,6	121	21,5	1,93	0,86	2,24
11	33,3	4,6	179	14,5	3,66	1,46	2,51
12	33,3	4,6	179	21,5	5,65	1,52	3,72
13	33,3	6,4	121	14,5	2,87	1,10	2,61
14	33,3	6,4	121	21,5	2,48	0,69	3,59
15	33,3	6,4	179	14,5	2,15	1,84	1,17
16	33,3	6,4	179	21,5	2,65	0,97	2,73
17	27,0	5,5	150	18,0	1,31	0,92	1,42
18	35,0	5,5	150	18,0	1,34	0,78	1,72
19	31,0	4,0	150	18,0	5,83	1,04	5,61
20	31,0	7,0	150	18,0	1,27	1,15	1,10
21	31,0	5,5	100	18,0	7,43	1,15	6,46
22	31,0	5,5	200	18,0	4,87	1,28	3,80
23	31,0	5,5	150	12,0	5,66	1,09	5,19
24	31,0	5,5	150	24,0	6,18	1,18	5,24
25	31,0	5,5	150	18,0	6,45	1,09	5,92
25	31,0	5,5	150	18,0	5,83	1,16	5,03
25	31,0	5,5	150	18,0	6,66	1,44	4,63
25	31,0	5,5	150	18,0	6,67	1,12	5,96
25	31,0	5,5	150	18,0	5,85	1,22	4,80
25	31,0	5,5	150	18,0	6,45	1,37	4,70

-Análisis de regresión:

A través de este análisis se observa que el efecto lineal de la temperatura es altamente significativo, mientras el resto no son estadísticamente significativos en la variable respuesta. En los efectos cuadráticos se aprecia que la temperatura y el pH son altamente significativos no así la velocidad de agitación y el tiempo de fermentación. Los efectos cuadráticos cruzados no son estadísticamente significativos, a excepción del efecto cruzado de la velocidad de agitación y pH, que sí es altamente significativo, esto debido a que la velocidad de agitación está relacionada con la velocidad de transferencia de oxígeno, la cual afecta el metabolismo celular, alterándose el pH.

- Establecimiento del modelo de regresión:

De acuerdo a los coeficientes de regresión estimados, el modelo de regresión completa sería:

$$\text{Act. Enzimática} = -271,56 + 17,37 X_1 + 4,87 X_2 + 0,21 X_3 - 1,65 X_4 - 0,30 X_1^2 - 1,16 X_2^2 - 0,00001 X_3^2 - 0,007 X_4^2 + 0,28 X_1 X_2 - 0,0033 X_1 X_3 + 0,0126 X_1 X_4 - 0,032 X_2 X_3 + 0,156 X_2 X_4 + 0,0044 X_3 X_4$$

- Análisis Canónico de la Superficie de Respuesta:

En la Tabla 5 se presentan los valores críticos de los factores con los cuales se obtiene el valor de la actividad enzimática en el punto estacionario o crítico, siendo este de 8,61 U/ml, que se logra bajo las condiciones de 28,67°C, pH 2,53, 181,08 r.p.m., las cuales se encuentran dentro de los rangos estimados en el diseño experimental, a excepción del tiempo, el cual se sale del rango estimado. Los autovalores muestran que el punto estacionario es un punto de silla o de máximo-mínimo ya que dichos valores fueron de diferentes signos. Debido a esto se realizó seguidamente el análisis de

Ridge para la respuesta máxima y mínima, este análisis permitir estimar la respuesta óptima de la actividad enzimática y los niveles de los factores considerados para lograr esa respuesta.

TABLA 5

Valores críticos obtenidos mediante el análisis canónico de la Superficie de Respuesta para la variable actividad enzimática de los extractos enzimáticos

Factor	Valor crítico	Rango utilizado
T	28,67	27-35
p	2,53	4,0-7,0
V	181,08	150-200
t	-7,09	12-24

Punto estacionario: 8,61 U/ml

T = temperatura (°C) p = pH

V = velocidad de agitación (r.p.m.)

t = tiempo (h)

- Análisis de Ridge:

El análisis de Rigde conlleva a la optimización del proceso con respecto a la actividad enzimática, cuando se obtiene un punto silla o de máximo y mínimo. En este caso el interés es encontrar los niveles de los factores en los cuales se obtiene una mayor actividad enzimática (8,25 U/ml), siendo estos: temperatura 30,3°C, pH 4,68, velocidad de agitación 190,76 r.p.m y tiempo de fermentación 18,55 h, sin embargo para efectos de operación del equipo y trabajo en el laboratorio, la velocidad se ajustó a 191 r.p.m y el tiempo a 18,5 h, lo cual no afectó la variable respuesta. Los valores de temperatura y pH encontrados a través de este análisis coinciden con los señalados en la bibliografía en la producción de esta enzima por levaduras (1,3,16-18), sin embargo no hay concordancia entre la velocidad de agitación y el tiempo de fermentación indicado entre estos autores. En este sentido autores han señalado con la misma levadura bajo estudio, el uso de 80 r.p.m. por un tiempo de 56 a 70 h (17) hasta 200 r.p.m. x 10 h (19). Otros autores con la levadura *K. fragilis* han indicado la utilización de 120 r.p.m. x 24 h (3), hasta 175 r.p.m. x 18 h (13,16). Con *K. marxianus* algunos autores reportan 400 r.p.m., sin considerar el tiempo de agitación utilizado (1) y otros señalan 200 r.p.m. x 10 h (18); es de hacer notar que esta variabilidad entre la velocidad de agitación y el tiempo de fermentación utilizado depende de la geometría del equipo empleado. Así mismo cabe resaltar que se ha logrado optimizar a través de la MSR, la composición de un medio de cultivo, para *Kluyveromyces fragilis*, utilizando en la fermentación una temperatura de

30°C y 130 r.p.m. durante un tiempo de 14 h, reportándose una actividad enzimática de 6,51 U/ml (20).

Purificación del extracto enzimático

En la Tabla 6 se muestran los resultados obtenidos en el proceso de purificación del extracto crudo de la enzima. Se puede apreciar que se obtuvo un menor rendimiento (50,8%), pero más pureza (7,4 veces), en comparación con lo encontrado con este mismo solvente, por otros autores con *Kluyveromyces fragilis*, (13) (97% y 2,74 veces de purificación), no obstante en nuestro trabajo se encontró mayor rendimiento y pureza a lo reportado con *K. marxianus* (1).

TABLA 6

Purificación del extracto enzimático

Fracción	Volumen (ml)	Actividad		Rendimiento (%)	Purificación (veces)
		enz. (U/ml)	Proteína (mg/ml)		
Extracto crudo	100	7,50	2,09	100	1
Precipitado con acetona	12	31,72	1,19	50,8	7,4

Temperatura y pH óptimos de la lactasa producida por *Kluyveromyces lactis*

Los resultados obtenidos en la determinación de la temperatura óptima de la enzima se muestran en la Figura 1. De acuerdo a estos resultados, la mayor actividad enzimática (46,6 U/ml) ocurre a la temperatura de 60°C. Este valor es similar al encontrado por otros autores con la misma levadura bajo estudio (17), pero es aproximadamente 10°C mayor a lo indicado en lactasa producida por otras levaduras (1,3,18). Con este valor de temperatura óptima se llevo a cabo la determinación de pH óptimo. Con respecto al pH se puede notar en la Figura 2, que el valor de mayor actividad enzimática (67,2 U/ml) ocurre a un pH de 6,2, lo cual coincide con la literatura revisada en lactasa producida por *Kluyveromyces fragilis* (3) y *Kluyveromyces marxianus* (1); aunque es menor al señalado por otros autores con esta última levadura (pH 7) (18). Estas diferencias entre las temperaturas y pH óptimos, parecieran intrínseco a la cepa utilizada en la producción de la enzima.

FIGURA 1

Efecto de la temperatura sobre la actividad de la β -galactosidasa producida por *Kluyveromyces lactis*

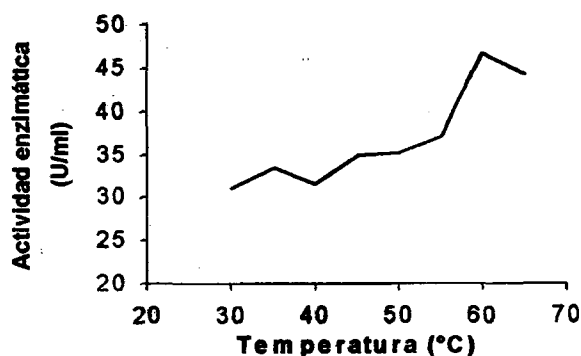
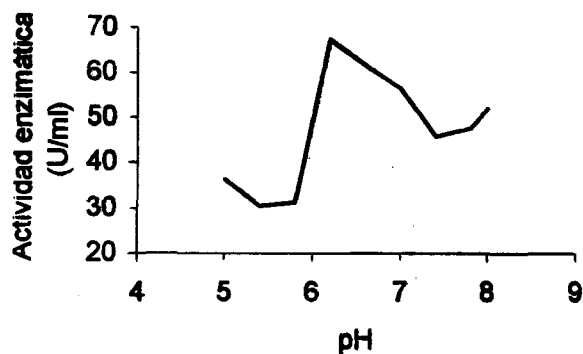


FIGURA 2

Efecto del pH sobre la actividad de la β -galactosidasa producida por *Kluyveromyces lactis*



CONCLUSIONES

El suero lácteo desproteinizado sirvió como base para la formulación de un medio de cultivo para levaduras capaces de hidrolizar la lactosa, debido a que presenta en promedio un contenido de lactosa de 4,85%.

En la optimización del proceso de producción de la β -galactosidasa por *Kluyveromyces lactis*, a partir de éste sustrato se pudo establecer como condiciones óptimas las siguientes: temperatura 30,3°C; pH 4,68; velocidad de agitación 191 r.p.m. y un tiempo de fermentación 18,5 h., notándose a través del análisis de regresión, que la temperatura fue el factor que más influyó en la producción de enzima por la levadura *Kluyveromyces lactis*.

El análisis canónico detectó que el punto crítico era un punto de silla, y mediante el análisis Ridge se logró optimizar la variable respuesta, que era la actividad enzimática.

La purificación parcial de la enzima con acetona, condujo a un rendimiento de 50,8% y una purificación de 7,4 veces del extracto enzimático.

La temperatura óptima de la enzima purificada fue alta (60°C), por lo cual esta enzima puede ser usada en productos lácteos pasteurizados, debido a que se incrementaría la hidrólisis de la lactosa, igualmente el pH de la enzima purificada fue de 6,2, lo cual favorece el uso de esta enzima en la hidrólisis de la lactosa en leche y productos lácteos que tienen un pH similar.

AGRADECIMIENTO

Los autores expresan su reconocimiento al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico (C.D.C.H), por el financiamiento de esta investigación (Proyecto N°01.37.4108.98).

REFERENCIAS

- Goncalves J y Castillo F. Partial Purification and Characterization of β -D-galactosidase from *Kluyveromyces marxianus*. J. Dairy Sci. 1982; 65(9):2088-2094.
- Michel A, Jacob F, Perrier J y Poncet S. Yeast Production from Crude Sweet Whey. Biotechnology and Bioengineering. 1987; 30(6):780-783.
- Sánchez L y Castillo F. Producción, Extracción y Caracterización Parcial de β -D-galactosidasa de *Kluyveromyces fragilis* Crecida en Suero de Leche. Acta Cient Venez. 1980; 31:154-159.
- Ward O. Biotecnología de la Fermentación. Principios, Procesos y Productos. Editorial Acribia, S.A., Zaragoza. España, 1989.
- Zambrano P. Producción de proteína unicelular a partir de suero desproteinizado. Trabajo de Grado. Facultad de Agronomía - UCV, 1997.
- Bigeles R. Carbohidrasas. Cap. 6. En: Enzymes in Food Processing. Ed. by T. Nagodawithana y G. Reed. 3rd. Edition. Academic Press, Inc., 1993
- Veisseyre R. Lactología Técnica. Cap. XVII. 2da. Edición. Editorial Acribia. Zaragoza. España, 1988.
- Zall R. Trends in whey fractionation and utilization, a global perspective. J Dairy Sci. 1984; 67(11):2621-2629.
- Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis of the AOAC. 15th. Edition. Washington D.C., 1990.
- Nelson N. Nelson-Somogy modification colorimetric method for determination reducing sugar. J Biol Chem. 1944; 153:375-380.
- Chacin F. Diseño y análisis de experimentos para generar superficie de respuesta. Trabajo de Ascenso. Facultad de Agronomía. Universidad Central de Venezuela., 1993.
- Lowry C, Rosenbrough N, Farr R y Randell R. Protein measurement with the folin phenol reagent. J Biol Chem. 1951; 193:265.
- Mahoney R y Whitaker J. Purification and Physicochemical Properties of β -galactosidase from *Kluyveromyces fragilis*. J Food Sci. 1978; 43:584-591.
- Cotton S. The utilization of permeates from the ultrafiltration of whey and skim milk. J Soc Dairy Techn. 1980; 38 (4): 97-100.

15. Bertsch A. Elaboración de vino a partir de permeado obtenido por ultrafiltración de suero láctico. Tesis de Grado. Facultad de Agronomía. Universidad Central de Venezuela. 1995.
16. Mahoney R, Nickerson T y Whitaker J. Selection of Strain, Growth Conditions and Extraction Procedures for Optimum Production of Lactase from *Kluyveromyces fragilis*. J Dairy Sci. 1975; 58(11):1620-1629.
17. Foda M, Mohammed S y Hussein L. Production of Lactase from *Kluyveromyces lactis* Propagated in Media with Different Sodium Chloride Concentrations. Zentralbl. Mikrobiol. 1988; 143:583-590.
18. Ku M y Hang Y. Production of Yeast Lactase from Sauerkraut Brine. Biotechnology Letters. 1992; 14(10):925-928.
19. Flores M, Voget C y Ertola R. Permeabilization of yeast cells (*Kluyveromyces lactis*) with organic solvents. Enzyme Microb Technol. 1994; 16: 340-346.
20. Chen K, Lee T y Hounng, J. Search method for the optimal medium for the production of lactase by *Kluyveromyces fragilis*. Enzyme Microb Technol. 1992; 14: 659-664.

Recibido: 11-06-2002

Aceptado: 30-04-2003

Elaboración de un queso tipo “cotija” con base en una mezcla de leche y garbanzo (*Cicer arietinum* L.)

Josefina C. Morales de León, Ma. Lorena Cassis Nosthas, Luis Gabriel García Beltrán

Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán (INCMNSZ), México, D.F.

RESUMEN. El objetivo fue elaborar y evaluar fisicoquímica, microbiológica y sensorialmente un queso extendido tipo “cotija” con base en una mezcla de leche entera y garbanzo (*Cicer arietinum* L.), inoculado con *Streptococcus thermophilus*. Se seleccionaron 2 mezclas 7:30 y 80:20 (leche y pasta de garbanzo); ambas mezclas se molieron, pasteurizaron y se inocularon con *Streptococcus thermophilus*, para desarrollar el sabor y el aroma de los quesos “extendidos”. En ambos productos se utilizaron 2 concentraciones de cuajo (1:10.000 y 2:10.000), ácido láctico y una solución al 50% de CaCl₂. Los resultados indicaron que el queso elaborado con la mezcla 7:30, concentración de cuajo 1:10.000 y solución de CaCl₂, presentó una cuajada débil con una pérdida del 12% de sólidos; un comportamiento similar se observó cuando se adicionó cuajo en una concentración 2:10.000. El queso elaborado con la mezcla 80:20 en concentración de cuajo 1:10.000 y 2:10.000, presentaron una consistencia firme. La adición del 5% de NaCl en la mezcla 80:20, facilitó el desuerado, obteniéndose un queso extendido tipo “cotija” con características sensoriales similares a las de un queso con base en leche. El análisis químico y físico del queso “extendido”, mostró que el contenido de proteína y de lípidos fue de 14.3 ± 0.42 y 15.5 ± 0.21 respectivamente, valores que se encontraron dentro de los límites informados para un queso tipo “cotija” de marca comercial. Microbiológicamente, el producto es apto para su consumo. Sensorialmente, el queso “extendido” presentó una aceptación del 80% mientras que el queso comercial, fue del 90%.

Palabras clave: Queso “cotija”, extensión, garbanzo, coagulación.

SUMMARY. Elaboration of “cotija” type cheese made of whole milk and chickpea (*Cicer arietinum* L.) mixture. The objective of this work was to elaborate “cotija” type cheese prepared with whole milk and chickpea (*Cicer arietinum* L.), inoculated with *S. Thermophilus* and to compare its physicochemical, microbiological and sensorial characteristics with a commercial cheese. Two mixture were selected 70:30 and 80:20 (whole milk:chickpea paste). Both mixture were ground, pasteurized and inoculated with *S. Thermophilus*, to develop taste and aroma. Two rennet concentrations (1:10.000 and 2:10.000), lactic acid and 50% CaCl₂ solution were used in both products. Results showed that cheese made with 70:30 mixture and 1:10.000 rennet concentration gave a weak curd and 12% of total solids were lost; in the same way as 70:30 mixture and 2:10.000 rennet concentration. Nevertheless, cheese made with 80:20 mixture and 10.000 or 2:10.000 rennet concentration showed hard consistency of its curd. Addition of 10% sodium chloride solution to the 80:20 mixture cheese, made better whey drain, and a “cotija” type cheese with similar sensory characteristics as a whole milk cheese, was obtained. Chemical and physical analysis of the extended “cotija” type cheese showed 14.3 ± 0.42 and 15.5 ± 0.21 g/100g of protein and lipid content respectively. Microbiologically, the extended “cotija” type cheese is pathogenic microorganisms free for human consumption. Sensory evaluation of the chickpea “extended” cheese showed a 80% acceptance while the acceptance of the whole milk commercial cheese was 90%.

Key words: “cotija” cheese, extended, chickpea, coagulation.

INTRODUCCION

En las distintas regiones geográficas y económicas del mundo, la elaboración del queso ha seguido diversas rutas y en consecuencia ha dado origen a una variedad de productos (1).

Si bien México no ocupa un lugar destacado entre los países productores y consumidores de éste producto, la presencia del queso, en múltiples platillos de la cocina nacional, es indudable. Datos de la Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos, indican que el 14% de la producción nacional de leche se destina a la fabricación de quesos y entre los principales que se consumen en nuestro país están el panela, el añejo, el chihuahua, el oaxaca y el tipo pancheo (1,2).

Los hábitos de consumo de leche y derivados lácteos son muy diferentes entre los pobladores del sector rural y urbano de nuestro país; se considera que aproximadamente el 40% de la población mexicana nunca la consume y que el 15% rara vez lo hace. Algunas zonas de la República Mexicana están especialmente afectadas por ésta situación, ya que se estima que el 60% de los estados de Oaxaca, Chiapas, Hidalgo, Querétaro y Tlaxcala no tiene conocimiento de éste tipo de productos al igual que en otras regiones marginadas del país (3,4).

El costo de la producción y de la distribución de la leche en México es alto, por lo que encontrar materias primas que puedan sustituir parcialmente la leche en la elaboración de algunos derivados lácteos es relevante para nuestro país. Entre

éstas materias primas se pueden destacar los concentrados proteicos de origen vegetal, principalmente de leguminosas (5). Desde el punto de vista nutricional, la "extensión", es un concepto válido que permite sustituir parcialmente un producto de mayor precio por otro similar pero de bajo costo. Técnicamente, es factible sustituir en forma parcial a la leche, por mezclas de soya, harinas de cereales y aceites, particularmente cuando se trata de productos fermentados y coagulados como son el yogurt y el queso (6,7).

Dentro de los trabajos de investigación que realiza el área de alimentos del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán (INCMNSZ), se ha utilizado un extracto de garbanzo (*Cicer arietinum* L.) para "extender" la leche en el desarrollo de productos como el yogurt (8), e incrementar el consumo de ésta leguminosa en nuestro país. De los resultados obtenidos en estos trabajos, se ha observado que en la elaboración de productos lácteos como el yogurt, la utilización del garbanzo, representa una alternativa viable para el desarrollo de éste tipo de productos (9).

Con base en lo anterior, el presente trabajo tuvo como objetivo determinar las condiciones de elaboración de un queso tipo "cotija" a partir de una mezcla de leche y pasta de garbanzo (*Cicer arietinum* L.) así como evaluar las características químicas, físicas, microbiológicas y sensoriales de los productos obtenidos.

MÉTODOS

Desarrollo experimental

Las materias primas garbanzo (marca San Lázaro) y leche entera de vaca (Nido-Nestlé), se adquirieron en tiendas de autoservicio de la ciudad de México; posteriormente, se sometieron a análisis químico y microbiológico, con el fin de conocer su composición y calidad sanitaria. Todos los análisis se realizaron por duplicado, con un coeficiente de variación menor al 5%.

Para determinación de la composición química aproximada de las materias primas, se utilizaron reactivos de las marcas comerciales J.T. Baker, Técnica Química y Requirin; y para el caso de los análisis microbiológicos, los medios de cultivo utilizados fueron: cuenta total (Difco), para hongos y levaduras (Merck), para coliformes totales (Merck, Difco), para coliformes fecales (Merck), para *Salmonella* (BBL, Difco, Merck) y para *Staphylococcus aureus* (BBL, Difco).

En cuanto a los controles de calidad que se tomaron en cuenta fueron: análisis fisicoquímicos, sustancias de referencias para la determinación de proteína (urea), extracto etéreo (leche en polvo) y fibra cruda (All-bran); análisis microbiológico: prueba de esterilidad del medio de cultivo; control ambiental; pruebas de promoción de crecimiento en medio de cultivo; control de esterilidad del diluyente;

verificación de las estufas y baño de incubación con un termómetro calibrado ASTM; control de calidad de las cepas de colección (*Salmonella* y *Staphylococcus*).

El cultivo láctico de inoculación directa "EZAL" de *S. Thermophilus*, se seleccionó de acuerdo a la clasificación para quesos madurados prensados de pasta dura, ya que este tipo de cultivo le proporcionó al producto las características físicas y sensoriales adecuadas al queso extendido (10,11). La cepa de inoculación directa utilizada se adquirió en la compañía CHR Hansen y el cuajo, el cloruro de calcio y el ácido láctico en la compañía Grupo Alimentae.

Para obtener el extracto estéril de garbanzo, se siguió el diagrama propuesto por Morales LJ, Cassis NL y Cecin SP (8). En dicho proceso, el garbanzo se hidrato en una relación 1:4, posteriormente se sometió a un tratamiento térmico en una proporción 1:4 y finalmente se molió en un molino coloidal en la relación 1:1; esta pasta se diluyó en una proporción 1:4 y se mezcló con la leche hidratada (30 g en 200 mL) para su posterior pasteurización. La pasta obtenida se analizó microbiológicamente con el fin de asegurar la ausencia de microorganismos.

Se diseñaron las mezclas de pasta de garbanzo y leche entera mediante el método de Cómputo Químico (relación entre el contenido de cada aminoácido indispensable de la proteína tomada de un estándar). De las mezclas teóricas obtenidas, se seleccionaron aquellas que cumplieron con las siguientes especificaciones: un contenido de proteína mínimo de 12g/100g y una relación metionina y triptofano mínima del 80% respecto al patrón FAO/OMS 73 (12). A cada una de ellas se les determinó el pH y el porcentaje de sólidos.

Con el objeto de obtener una cuajada rígida en las mezclas de leche entera y pasta de garbanzo inoculadas con *S. Thermophilus* e incubadas a 40°C ± 5°C, se les adicionó cuajo en concentraciones de 1:10.000 y 2:10.000 mL de cuajo/mL de leche, recomendadas por el proveedor ("Cuamex", S.A. de México).

Se determinó el tiempo de coagulación, el rendimiento de la cuajada y las características sensoriales de olor, sabor y textura de las cuajadas obtenidas. Se seleccionaron 2 mezclas a las que se les adicionó una solución de cloruro de calcio al 50% para mejorar la textura de la cuajada (10,11).

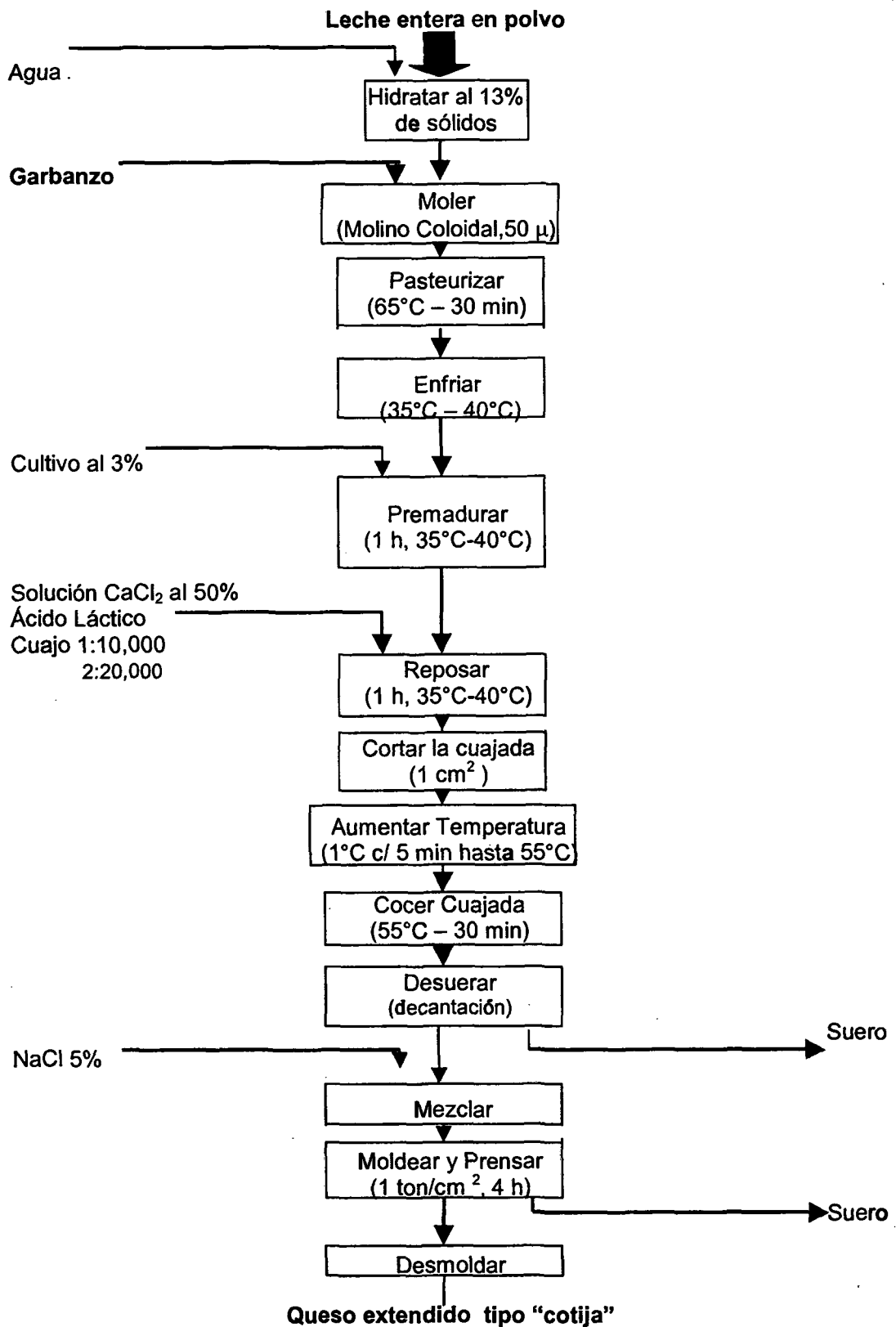
Con las dos mezclas seleccionadas (leche:pasta de garbanzo), adicionadas con 5% de cloruro de sodio y de acuerdo al diagrama que se presenta en la Figura 1, se elaboraron los productos "extendidos" con garbanzo.

El producto finalmente obtenido se caracterizó por medio de análisis químico, físico, microbiológico y sensorial.

Métodos de análisis

Los análisis a los que se sometieron tanto las materias primas como el queso "extendido" con garbanzo fueron los siguientes:

FIGURA 1
 Procedimiento de elaboración de un queso tipo "cotija" extendido con garbanzo (*Cicer arietinum* L)



Análisis químico, de acuerdo a las técnicas oficiales del AOAC (13), en las que se incluyen humedad (925.09), cenizas (923.03), proteína (977.14, 976.05, 920.05), extracto etéreo (920.39), fibra cruda (962.09). Los hidratos de carbono, se calculan restando a 100, la suma de los valores obtenidos en las citadas determinaciones.

Acidez total titulable, de acuerdo a la técnica oficial del AOAC (método potenciométrico) (13).

Actividad acuosa, por medio de la técnica del manual del equipo Novasina Dal 20 (14).

Determinación de pH, de acuerdo a la técnica del manual del potenciómetro orion-research, modelo 601-A (15).

Análisis microbiológicos, de acuerdo a las técnicas del manual de microbiología del INNSZ (16), en las que se incluyen: cuenta total de bacterias mesofílicas aerobias, hongos y levaduras, cuenta de coliformes totales, *Escherichia coli*, *Salmonella* y *Staphylococcus aureus*.

Evaluación sensorial. Se invitó al personal de la Dirección de Nutrición del INCMNSZ, a participar en la evaluación de los quesos extendidos. Se seleccionaron a aquellas personas que fueran consumidoras potenciales de queso.

Se utilizó una prueba de nivel de agrado por atributos, con escala hedónica de 7 puntos, en donde 1 corresponde a "muy pobre" y 7 "excelente", con el objeto de obtener una mejor descripción de los atributos a evaluar, así como también el grado de satisfacción que provoca cada uno de los quesos elaborados.

Los quesos extendidos se presentaron en platos desechables codificados con números aleatorios, conteniendo aproximadamente 25 g de queso cada uno y se evaluaron por 30 jueces no entrenados (20); se les pidió, a cada uno de los jueces, que entre muestra y muestra tomaran un poco de pan y agua para eliminar el sabor de la muestra, e indicaran en la hoja de evaluación correspondiente el nivel de agrado o desagradado para cada una de las muestras y para cada uno de los atributos (17-19).

Para la interpretación estadística, se aplicó una prueba t-Student ($p \leq 0.05$). Se calculó el porcentaje de aceptación de los quesos evaluados tomando como base que los 30 sujetos representan el 100%.

RESULTADOS

En la Tabla 1, se presentan los resultados obtenidos del análisis químico de las materias primas.

TABLA 1
Composición química aproximada
(g/100g)

Determinación	Garbanzo (<i>Cicer arietinum</i> L)	Leche entera en polvo
Humedad	9.9 ± 0.07	1.9 ± 0.07
Cenizas	2.9 ± 0.0	5.8 ± 0.42
Fibra cruda	3.2 ± 0.0	-
Proteína *	16.3 ± 0.0	27.1 ± 0.77
Extracto etéreo	6.4 ± 0.0	26.9 ± 0.35
Hidratos de carbono **	61.3 ± 0.07	38.3 ± 0.07

* Nitrógeno x 6.25 para garbanzo

Nitrógeno x 6.38 para leche

** por diferencia

Del análisis microbiológico (Tabla 2) se observan que tanto la cuenta total de mesófilos, hongos y levaduras, coliformes, así como *Salmonella* y *S. Aureus*, se encuentran dentro de los límites establecidos por la norma oficial mexicana para leche (50.000 UFC/g, menos de 10 UFC/g, NMP menos de 3/g y negativo en 25g respectivamente) (21); sin embargo, se le sometió a un proceso de pasteurización lenta (65°C/30 min), para disminuir la carga microbiana.

TABLA 2
Análisis microbiológico de la leche entera en polvo

Determinación	Leche entera en polvo	Norma oficial (21)
Cuenta total	310 UFC/g	10.000 UFC/g
Hongos y levaduras	menos de 10 UFC (1)	menos de 10 UFC
Coliformes totales	NMP 8/g	NMP menos de 10g
Coliformes fecales	NMP menos de 3/g (2)	NMP menos de 3g
Salmonella	negativo en 25g	negativo en 25g
S. Aureus	menos de 100 UFC/g (3)	menos de 100 UFC/g

(1) 0 UFC en la dilución 10⁻¹

(2) Negativo en serie 333 (1.0.1 y 0.01 g de muestra)

(3) 0 UFC con 0.1 ml de dilución 10⁻¹

En la Tabla 3 se presenta el porcentaje de metionina + cistina obtenido en las mezclas teóricas de leche y garbanzo; se observa que de las 11 mezclas obtenidas sólo 6 cumplieron con la especificación establecida, esto es que cumplan con el 80% del patrón FAO/OMS/73 para metionina + cistina, además el contenido de proteína se incrementó encontrándose entre 22.4 y 26.8 g/100. Los resultados de la caracterización de las mezclas seleccionadas adicionadas con cuajo 1:10.000, se presentan en la Tabla 4, se observa que las mezclas 50:50 y 60:40 (leche:pasta de garbanzo) los tiempos de coagulación fueron mayores (4 y 3 h) en comparación con el tiempo de coagulación de la leche sola (1 h) (10); por otro lado, se

percibió un olor y sabor a garbanzo cocido y el rendimiento obtenido fue menor al 5% y 9%, respectivamente en comparación con el rendimiento del queso fresco elaborado con leche que es de 11% y 12% (10). Conforme se disminuyó el porcentaje de la pasta de garbanzo, los tiempos de coagulación disminuyeron. Las características sensoriales obtenidas en las mezclas 70:30, 80:20 y 90:10 fueron similares a las de un queso elaborado con solo leche y además se tienen un incremento en el rendimiento del producto (entre 10% y 12%). Con base en estos resultados, se seleccionaron las mezclas 70:30 y 80:20 (leche: pasta de garbanzo) para continuar con el estudio.

TABLA 3
Calificación química de las mezclas con base en leche entera y pasta de garbanzo

Leche + Pasta garbanzo	Metionina + Cistina	Proteína (teórica) (%)
100:0	100	26.8
90:10	96.3	25.9
80:20	92.6	25.0
70:30	88.9	24.2
60:40	85.2	23.3
50:50	81.5	22.4

TABLA 4
Características físicas y sensoriales obtenidas en las mezclas de leche entera y pasta de garbanzo (cuajo 1:10.000, incubadas a 35°C ± 1°C)

Leche + pasta de garbanzo (h)	Tiempo de coagulación (h)	Rendimiento (%)	Atributos sensoriales
90:10	1	12	Olor y sabor a lácteo; cuajada firme
80:20	1	12	Olor y sabor a lácteo; cuajada firme
70:30	1.5	10	Ligero olor a garbanzo cocido; poca precipitación de garbanzo
60:40	3	9	Ligero olor a garbanzo cocido; poca precipitación de garbanzo
50:50	4	5	Olor y sabor a garbanzo cocido; cuajada débil; precipitación de garbanzo

Con respecto a las características físicas obtenidas en las mezclas 70:30 y 80:20 adicionadas con cuajo y solución al 50% de cloruro de calcio (Tabla 5), se observó que la cuajada obtenida en la mezcla 7:30 con una concentración de cuajo 1:10.000 (1 mL de cuajo: 10.000 L leche), presentó poca cohesión de las partículas, por lo que al desuerar por decantación, el coágulo se rompió perdiéndose sólidos en el suero del orden del 12%. Un comportamiento similar se observó en la concentración 2:10.000 (2 mL de cuajo; 10.000 L leche).

TABLA 5
Características físicas obtenidas en las mezclas 70:30 y 80:20 (leche entera: pasta de garbanzo) (cuajo y solución al 50% de cloruro de calcio)

Mezcla	Concentración de cuajo	Tiempo de coagulación (h)	pH	Características de cuajada
70:30	1:10.000	1.5	4.5	Débil
70:30	2:10.000	1.5	4.5	Débil
80:20	1:10.000	1.5	4.5	Firme
80:20	2:10.000	1.5	4.5	Firme

Sin embargo, en la mezcla 80:20 con las mismas concentraciones de cuajo:leche 1:10.000 y 2:10.000 y la solución al 50% de cloruro del calcio, la cuajada obtenida fue de consistencia firme y con tiempos de coagulación similares a las de un queso elaborado con solo leche.

En base a estos resultados se seleccionó la concentración 1:10.000 de cuajo y una solución al 50% de cloruro de calcio, para la elaboración del queso "extendido" con garbanzo en mezcla 80:20 (leche entera: pasta garbanzo).

En la Tabla 6, se presentan los resultados obtenidos del análisis químico y físico del queso extendido. Los contenidos de proteína y de extracto etéreo fueron 14.3g/100g y 15.5 g/100g, respectivamente, (determinaciones realizadas a las 2 semanas de maduración) por lo que al no contar con un queso comercial con características similares al queso elaborado no se realizó la comparación. Cabe aclarar que los quesos comerciales frescos, madurados y procesados, varían significativamente en su contenido proteico y graso (22), sin embargo; este bajo contenido de los componentes obtenidos en el queso extendido, se debió principalmente a que para la elaboración del queso "extendido", la pasta de garbanzo se diluye en una relación 1:4 (pasta de garbanzo:agua) y por otro lado, la preparación de la leche en polvo con agua. Por otro lado, si se observa en el diseño de mezclas, la mezcla que presenta un contenido de proteína teórica de 26.8 g/100g, es la mezcla 100% leche.

TABLA 6
Análisis químico y físico de queso tipo "cotija"
extendido con garbanzo
(g/100g)

Determinación	Queso tipo "cotija" extendido
Humedad	34.9 ± 0.70
Proteína*	14.3 ± 0.42
Extracto etéreo	15.5 ± 0.21
Cenizas	7.3 ± 0.21
Hidratos de carbono **	28.0 ± 0.14
pH	5.1 ± 0.07
Aa	0.86 ± 0.007
Acidez total (mg ácido láctico/g)	0.7 ± 0.07

* Nitrógeno x 6.25 para garbanzo

Nitrógeno x 6.38 para leche

** Por diferencia

Debido a que no se cuenta con una norma oficial para queso fresco "extendido", los resultados obtenidos del análisis microbiológico (Tabla 7), se compararon con la norma oficial para quesos frescos, madurados y procesados (23), por lo que el queso "extendido" con garbanzo, cumple con las especificaciones de la norma, por lo que resulta apto para su consumo.

TABLA 7
Análisis microbiológico del queso tipo "cotija" extendido
con garbanzo

Determinación	UFC/g	Norma (UFC/g) (23)
Coliformes totales	NMP 10/g	10.000
<i>E coli</i>	NMP negativo en 10 g	1.000
<i>Salmonella</i>	negativo en 25 g	Ausente
<i>S aureus</i>	menos de 100	100

Con respecto a la evaluación sensorial de los quesos (Tabla 8), se observa que los atributos de apariencia, color, textura y sabor fueron similares entre ellos, obteniéndose un porcentaje de aceptación del 80% para el queso "extendido" con garbanzo y del 90% para el queso elaborado con leche. La interpretación estadística de los resultados obtenidos, no indicó diferencias significativas entre los quesos.

TABLA 8
Evaluación sensorial de los quesos tipo "cotija" con base
en leche y extendido con garbanzo

Atributos	Queso tipo "cotija" Extendido	Queso tipo "cotija" Comercial
Apariencia	Buena	Buena
Color o tono	Crema	Crema
Textura	Semiduro	Semiduro
Sabor	Bueno	Bueno
Aceptación (%)	80	90

CONCLUSIONES

Se logró "extender" la leche, para elaborar derivados lácteos como es el queso tipo "cotija", a partir de una mezcla 80:20 leche entera:pasta de garbanzo (*Cicer arietinum* L).

El uso del garbanzo (*Cicer arietinum* L) como materia prima en la elaboración de quesos, resultó una alternativa viable para el aprovechamiento de esta leguminosa.

AGRADECIMIENTO

Los autores agradecen al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el financiamiento parcial del proyecto Nut 1308990.

REFERENCIAS

- Picos J. Los quesos en México. Cuadernos de Nutrición 1986;9(4):3-15, México.
- Morales LJ, Cecin SP y Santillán DM. Estudio para la identificación y caracterización de quesos de humedad intermedia que la elaboracise expenden en el Distrito Federal. Rev Tecnol Aliment 1996;31(6).
- Badui S. Breve análisis de la producción de leche en México. Rev Tecnol Aliment 1992;24(3):12-20.
- INEGI 1995. Actividad lechera, Lacticios, 2:24. México, D.F.
- Arroyo C. Aspectos de la industria lechera en Latinoamérica. Industrias Lácteas 1982;31(4):8-26.
- Fernández Quintela A, Sarralde J. Leguminosas y concentrados de proteína alimentaria. 1993;1:59-62.
- Viniestra G. El reto alimentario. ¿Sabemos como afrontarlo?. Cuad Nutr 1989; 12(1):17-32.
- Morales LJ, Cassis NL y Cecin SP. Obtención de un extracto de garbanzo (*Cicer arietinum*) para utilizarlo en el desarrollo de productos "extendidos". 1998 Arch Latinoamer Nutr 2000;50(2):157-163.
- Morales LJ, Cassis NL y Cortés PE. Elaboración de un yogurt con base en una mezcla de leche y garbanzo (*Cicer arietinum*). Arch Latinoamere Nutr 2000;50(1):81-86.

10. SEP-TRILLAS. Elaboración de productos lácteos. México, D.F. 1996.
11. Amitot J. Ciencia y tecnología de la leche. Principios y aplicaciones Ed. Acribia, S.A. España. 1991.
12. FAO/WHO/UNU Expert Consultation World Health Organization. Energy and Proteins Requirements. Technical report series 7243. Geneva, 1985.
13. Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis of the AOAC. 16th. Ed. Washington, 1995.
14. Manual de determinador de actividad de agua Novasina DAL 20.
15. Manual del potenciómetro orion-research, modelo 601-A/ digital analyser.
16. Colón HML, Morales LJ. Manual de microbiología de alimentos. Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubirán. Subdirección de Nutrición y Ciencia de los Alimentos. Dpto. de Ciencia y Tecnología de Alimentos. 1993. México, D.F.
17. Pedrero DL, y Pangborn RM. Evaluación sensorial de los alimentos. Métodos analíticos. Ed. Alhambra Mexicana. México, D.F: 1989.
18. Resurrección AVA. Consumer Sensory Testing for Product Development. An Aspen Publication, Gaithersburg, Maryland, 1998.
19. Wittig de Penna E. Evaluación sensorial. Una metodología actual para tecnología de alimentos. Talleres Gráficos USACH Chile. 1986.
20. Ureña M, D'arigo M, Girón O. Evaluación sensorial de los alimentos. 1ra. Ed. Ed. Agraria, Lima, Perú. 1999.
21. NOM F-184 -SSA1-2000. Leche para consumo humano. Especificaciones sanitarias.
22. Morales LJ, Babinsky V, Bourges RH y Camacho PME. Tablas de Composición de Alimentos Mexicanos. INCMNSZ. México, 2000.
23. NOM F-121-SSA1-1994. Quesos frescos, maduración y procesados. Especificaciones sanitarias.

Recibido: 16-11-2001

Aceptado: 20-03-2003

Desarrollo de una formulación optimizada de mermelada de damasco de bajo contenido calórico utilizando la metodología Taguchi

Mario Villarroel, Ruth Castro, Julio Junod

Universidad de la Frontera, Temuco, Chile

RESUMEN. El objetivo de este estudio fue desarrollar una formulación optimizada de mermelada dietética, aplicando la metodología Taguchi. La razón que se tuvo para seleccionar dentro del diseño experimental esta metodología de trabajo fue demostrar las ventajas que tienen la aplicación de diseños factoriales ortogonales a problemas que ocurren con bastante frecuencia en la industria alimentaria especialmente en el área de desarrollo de productos, cuando la respuesta que se busca depende de la influencia de múltiples variables. En esta ocasión se desarrolló una formulación de mermelada de damasco de bajo contenido energético tratando de obtener la mejor combinación de múltiples variables para lograr una calidad sensorial óptima. Se trabajó simultáneamente con cinco factores de control: acidez, espesante, edulcorante, aromatizante y tiempo, así como posibles interacciones entre algunas de ellas, aplicando el diseño ortogonal L_8 (2^7). Se elaboraron ocho formulaciones experimentales que se analizaron sensorialmente aplicando el test de puntaje compuesto y una escala descriptiva cuantitativa desde "1= Malo hasta 5= Muy bueno". El análisis estadístico permitió comprobar que los factores espesante, edulcorante y aromatizante afectaban significativamente ($p < 0.05$) la calidad sensorial del producto con una contribución total de 82% sobre la calidad sensorial de la mermelada. La combinación óptima de las variables independientes resultó ser: ácido cítrico 0.2%; pectina 1%; edulcorante, 30g azúcar/16mg aspartame/100g de producto, aroma a damasco 0.5mL y tiempo de cocción 5 minutos. Con respecto a la composición química, los resultados más importantes fueron un menor contenido de hidratos de carbono en la mermelada optimizada, que redujo el aporte calórico en un 56% con respecto a mermeladas tradicionales, y el contenido de fibra dietaria superior a productos comerciales similares. Los ensayos de estabilidad o vida útil, se llevaron a cabo almacenando las muestras bajo condiciones controladas de temperatura (15°C a 25°C) y grosor de envase (0.3 y 1.0 micrones). Al cabo de 90 días de almacenamiento no se detectaron cambios sensoriales ni químicos significativos, y las condiciones microbiológicas se mantuvieron dentro de los límites permitidos por la norma chilena. **Palabras clave:** Mermelada dietética, alimento funcional, diseños factoriales, optimización, Taguchi, arreglo ortogonal.

SUMMARY. Development of an optimized dietetic formulation of damask marmalade using Taguchi methodology. The goal of this present study was the development of an optimized formula of damask marmalade low in calories applying Taguchi methodology to improve the quality of this product. The selection of this methodology lies on the fact that in real life conditions the result of an experiment frequently depends on the influence of several variables, therefore, one expedite way to solve this problem is utilizing factorial designs. The influence of acid, thickener, sweetener and aroma additives, as well as time of cooking, and possible interactions among some of them, were studied trying to get the best combination of these factors to optimize the sensorial quality of an experimental formulation of dietetic damask marmalade. An orthogonal array L_8 (2^7) was applied in this experience, as well as level average analysis was carried out according Taguchi methodology to determine the suitable working levels of the design factors previously choiced, to achieve a desirable product quality. A sensory trained panel was utilized to analyze the marmalade samples using a composite scoring test with a descriptive acuantitative scale ranging from 1= Bad, 5= Good. It was demonstrated that the design factors sugar/aspartame, pectin and damask aroma had a significant effect ($p < 0.05$) on the sensory quality of the marmalade with 82% of contribution on the response. The optimal combination result to be: citric acid 0.2%; pectin 1%; 30g sugar/16mg aspartame/100g, damask aroma 0.5 ml/100g, time of cooking 5 minutes. Regarding chemical composition, the most important results turned out to be the decrease in carbohydrate content compaired with traditional marmalade with a reduction of 56% in coloric value and also the amount of dietary fiber greater than similar commercial products. Assays of storage stability were carried out on marmalade samples submitted to different temperatures held in plastic bags of different density. Non perceptible sensorial, microbiological and chemical changes were detected after 90 days of storage under controlled conditions.

Key words: Dietetic marmalade, functional food, factorial design, optimization, Taguchi, orthogonal array.

INTRODUCCION

La característica más importante que identifica al mercado consumidor actual y que impacta indirectamente en la industria de alimentos, es su tendencia a cambiar constantemente tanto en sus gustos como en sus preferencias. Este fenómeno social tiene sus raíces en el impacto significativo de la globalización de las comunicaciones que de hecho han roto fronteras físicas entre países, afectando la generación y traspaso de información cultural, tecnológica y científica, incrementando el intercambio de valores culturales, de conocimientos y experiencias a nivel profesional, facilitando la toma de decisiones o la exploración de alternativas tecnológicas que se concretan en la oferta de nuevos productos alimenticios con ventajas comparativas superiores a las ya existentes segmentando al mismo tiempo el mercado consumidor. Dicho de otra manera, la formulación y desarrollo de productos no solo tienen una función nutricional y sensorial como ocurre en los alimentos tradicionales, sino también una función fisiológica que busca proteger el estado de salud del consumidor. Surge así el concepto de alimento funcional, sobre el cual aún no hay consenso para definirlo en forma precisa, y que bien podría considerárselos como productos intermedios entre los tradicionales y la medicina. Se podrían definir por ejemplo "cualquier alimento en forma natural o procesada, que además de sus componentes nutritivos contiene componentes adicionales que favorecen a la salud, la capacidad física y el estado mental de una persona" (1). Entre sus componentes se citan: fibra dietaria, oligosacáridos, probióticos, péptidos y proteínas, ácidos poliinsaturados (ácido araquidónico, linoleico, linolénico), glucósidos, fenoles, minerales, fructooligosacáridos, isomalto-oligosacáridos, antioxidantes (vitamina A, D, E, C), carnitina, colina, minerales (selenio), polioles (maltitol, palatinosa), cultivos probióticos, lactato y citrato de calcio, lactato de potasio, etc. (2-5).

En los dos últimos años han sido introducidos en el mercado formulaciones alimenticias con la intención de revertir su objetivo primario. En el caso de Chile, se tiene el ejemplo específico de la industria de lácteos, donde la leche líquida se comercializa en 24 formas diferentes de presentación, incluyendo leches saborizadas, con diferentes contenidos de materia grasa, potenciada con adición de vitamina D, fortificada con calcio, modificadas con cultivos lácticos (para regularizar la función intestinal). En particular la industria Nestlé lanzó al mercado en el año 2000 varios productos con características funcionales como es el caso de la leche Omega Plus, que incluye la presencia de ácidos grasos omega 3, con la intención de prevenir enfermedades cardiovasculares (7).

En lo que respecta a las mermeladas, estos productos (8,9)

tradicionalmente se caracterizan por ser alimentos de alta densidad energética, con propiedades sensoriales muy atractivas para los consumidores por su sabor, aroma, color y su estabilidad durante el almacenamiento (10). Desde el punto de vista nutricional, las mermeladas aportarían solamente energía, pero la tendencia actual en cuanto a consumo (11) es desarrollar productos hipocalóricos sustituyendo parcialmente la concentración de azúcares solubles por edulcorantes sintéticos no metabolizados. Con esta medida se estaría dando solución a la preocupación de organismos estatales de salud que recomiendan moderar su consumo ya que pueden contribuir al aumento de la obesidad y de caries dentales (12). En los países industrializados, el control del peso es una de las prioridades identificadas para el futuro, mientras que otros desarrollan programas nacionales destinados en disminuir los riesgos cardiovasculares de su población, incluyendo aquellos vinculados a la obesidad.

En Chile, la preocupación tanto de instituciones públicas como privadas por este problema es creciente (13-18). Por estas razones, dentro de los objetivos de este estudio se pretende formular una mermelada baja en calorías de óptima calidad sensorial en la cual se disminuya la cantidad de calorías, y se mejoren sus características nutricionales incrementando la concentración de fibra dietética, tomando en cuenta que su presencia en la dieta ha demostrado ser útil en el tratamiento de algunas enfermedades tales como diabetes, trastornos cardiovasculares, constipación y diverticulosis a través de una ingesta adecuada de ellas (19-22).

MATERIAL Y METODOS

Materia prima

En este estudio se utilizó pulpa de damasco variedad Imperial, adquirida en el Instituto de Agroindustria de la Universidad de la Frontera, Temuco. El resto de los ingredientes tales como pectina cítrica, aspartame, sorbato de potasio, ácido cítrico, sacarosa y esencia de damasco se adquirieron de firmas distribuidoras nacionales.

Optimización de la formulación de mermeladas dietéticas de damasco

Se utilizó la metodología Taguchi (23-30), que permite trabajar simultáneamente con varios factores de control. En el caso particular de este estudio, a través de sesiones de "brain storming" se seleccionaron las variables independientes; concentración de acidez, concentración de espesante, concentración de edulcorante, concentración de aroma de damasco, tiempo de cocción y las interacciones acidez/espesante y acidez/edulcorante.

Como la respuesta buscaba según la metodología Taguchi corresponde a "mayor es mejor", se utilizó el diseño matricial

ortogonal, donde el subíndice 8 corresponde a las corridas L_8 , 2^7 , donde el subíndice 8 corresponde a las corridas experimentales, el superíndice 7 representa la cantidad de variables independientes (Tabla 1), y el número 2 señala que se utilizaron dos niveles de trabajo por factor de control. Para definir los niveles de trabajo se tomaron como referencia datos en la bibliografía especializada, como también realizado ensayos preliminares. De esta forma se llegó a los resultados que se indican en la Tabla 2.

TABLA 1
Esquema matriz ortogonal L_8 (2^7)

P. diseño	A	B	AxB	C	AxC	D	E	Y
1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	Y1
2	-1	-1	-1	1	1	1	1	Y2
3	-1	1	1	-1	-1	1	1	Y3
4	-1	1	1	1	1	-1	-1	Y4
5	1	-1	1	-1	1	-1	1	Y5
6	1	-1	1	1	-1	1	-1	Y6
7	1	1	-1	-1	1	1	-1	Y7
8	1	1	-1	1	-1	-1	1	Y8

-1= Nivel menor; 1= Nivel mayor

A= Acidez; B= espesante; C= edulcorante; D= aromatizante; E= tiempo; Y= CS

TABLA 2
Niveles de trabajo de las variables independientes

Factores de control	Niveles de trabajo	
	-1	1
Acido cítrico	0.2%	0.5%
Pectina cítrica	1%	2%
Azúcar/aspartame*	14g/32mg	30g/64mg
Tiempo de cocción	7 min	15 min
Aroma damasco*	.0.5 ml	1 ml

* por 100g de producto

En la parte experimental se elaboraron 8 formulaciones de mermeladas de damasco, correspondiendo cada una de ellas a diferentes combinaciones de los factores de control, las que fueron evaluadas por un panel sensorial entrenado de 11 jueces, utilizando el test de puntaje compuesto (31) y una escala analítica descriptiva de cinco puntos, donde 1 = Mala y 5 = Muy buena. La variable dependiente fue Calidad Sensorial (CS) definida como la suma de las características, sabor y consistencia.

$$CS = 0.57 \times \text{sabor} + 0.43 \times \text{consistencia}$$

Análisis estadístico de resultados del proceso de optimización

Los resultados de calidad sensorial fueron sometidos a análisis estadístico de diferencias de promedios de respuesta por nivel de trabajo de cada factor y, Análisis de Varianza (ANOVA) para determinar los factores de control y sus respectivos niveles óptimos de trabajo que afectan significativamente la respuesta a un nivel de significancia de 5%. En este estudio se utilizó el software estadístico Qualitex-4 (35).

Caracterización química

La formulación optimizada de mermelada fue sometida a una caracterización química proximal de acuerdo a los métodos estándares de la AOAC (32). El contenido energético se determinó utilizando los coeficientes de Atwater que son respectivamente grasa 9= Kcal/100g y para hidrato de carbono y proteína es 4 Kcal/100g.

Estudio de vida útil

La muestra óptima seleccionada por la metodología Taguchi se sometió a un ensayo de estabilidad al almacenamiento, bajo las siguientes condiciones: temperatura 15°C y 25°C y, envases de polietileno de 0.3 y 1.0 micrones respectivamente, por un período total de 3 meses. Cada 15 días se extrajeron muestras (según condiciones de almacenamiento) y se analizó la evolución de cambios sensoriales cuantificando la característica sabor, utilizando para ello un panel sensorial entrenado compuesto por 11 personas y la aplicación del test discriminador pareado (31,34) comparando las muestras almacenadas con una muestra testigo de mermelada de damasco recién elaborada. También se realizaron ensayos químicos, analizando la variación de acidez expresada como porcentaje de ácido cítrico, y microbiológicos por medio de recuento de hongos y levaduras de acuerdo a procedimientos descritos en el Manual de Técnicas Microbiológicas del Instituto de Salud Pública (ISP) (33).

RESULTADOS Y DISCUSION

El presente trabajo tiene como objetivo central desarrollar una mermelada funcional de damasco con características funcionales que presentan ventajas comparativas con relación a productos tradicionales similares. En nuestro estudio como la respuesta depende de muchos factores, fue necesario utilizar un diseño factorial ortogonal con el objeto de obtener la mejor combinación de las variables seleccionadas para lograr un producto de óptima calidad sensorial. De las metodologías que se podían aplicar a este estudio se seleccionaron dos. Una de ellas era la metodología Superficie Respuesta (36,37) y la otra que finalmente se seleccionó fue

la Metodología Taguchi, aunque ambas presentan enormes ventajas comparativas para optimizar una formulación, destacando entre ellas simplicidad, ahorro de tiempo, menores costos y aseguramiento de calidad del producto final.

La Tabla 3 resume los resultados de calidad sensorial de la mermelada experimental de damasco. Los datos representan los valores promedios de calidad sensorial de las ocho formulaciones de mermelada de damasco, resultante de las diferentes combinaciones de las variables independientes que se analizarán estadísticamente para determinar la influencia de los factores de control y sus niveles de trabajo sobre la respuesta buscada. Observando los resultados de Calidad Sensorial se demuestra que la mejor combinación de variables independientes correspondió a la muestra experimental N° 8, obteniendo un puntaje promedio de calidad sensorial de 4,2 que equivale a una calificación de "buena", donde los factores acidez, espesante, edulcorante, y tiempo se utilizaron al nivel máximo y el factor aromatizante al nivel mínimo. La peor combinación correspondió a la muestra N° 3 con una calificación promedio de 2,6 considerada como mala a regular, donde los factores espesante, aromatizante y tiempo se utilizaron al nivel máximo y los factores acidez y edulcorante se usaron en su mínimo nivel de concentración.

TABLA 3
Calidad sensorial de formulaciones de mermelada hipocalórica de damasco (*)

P. diseño	A	B	AxB	C	AxC	D	E	CS
1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	3.35
2	-1	-1	-1	1	1	1	1	3.12
3	-1	1	1	-1	-1	1	1	2.60
4	-1	1	1	1	1	-1	-1	3.98
5	1	-1	1	-1	1	-1	1	3.52
6	1	-1	1	1	-1	1	-1	2.80
7	1	1	-1	-1	1	1	-1	3.11
8	1	1	-1	1	-1	-1	1	4.17

* Promedio de dos replicaciones; Rango escala 1= malo; -5= muy bueno

A= Acidez; B= espesante; C= edulcorante; D= aromatizante; E= tiempo cocción; Tamaño del panel = 11

Se procedió seguidamente a analizar los efectos promedios por cada nivel de trabajo de los factores de control. La diferencia calculada presenta el grado de inclinación de la pendiente de cada factor, en otras palabras, la magnitud de la influencia de los factores de control sobre la calidad sensorial. Los resultados se resumen en la Tabla 4. Al examinar los valores promedios por factor y por nivel, las mayores diferencias se obtuvieron para las variables independientes espesante, edulcorante y aromatizante y en

cada uno de ellos, los valores promedio mas altos correspondieron a los niveles 2, 2 y 1 respectivamente.

TABLA 4
Calidad sensorial promedio por nivel de cada factor de control

Nivel*	A	B	C	D	E	A x B	A x C
-1	3,26	3,20	3,14	3,75	3,31	3,43	3,23
1	3,40	3,46	3,51	2,91	3,35	3,22	3,43
Diferencia	0,14	0,26	0,37	0,84	0,04	0,21	0,20

*-1= Nivel menor; 1= Nivel mayor; Tamaño panel = 11

A= Acidez; B= espesante; C= edulcorante; D= aromatizante; E= tiempo cocción AxB y AxC

Posteriormente los datos de la experiencia se sometieron a un análisis de varianza y su resultado se presenta en la Tabla 5. En el análisis estadístico de varianza se tomó la decisión de eliminar los factores acidificante, tiempo de cocción y las interacciones por su escasa influencia en la respuesta, situación ya demostrada por los valores obtenidos en la Tabla 4, permaneciendo solamente los factores espesante, edulcorante y aromatizante que afectan en forma significativa la respuesta ($p < 0.05$), aportando en forma conjunta un 82,3% de influencia sobre la calidad sensorial de la mermelada dietética de damasco.

TABLA 5
Análisis de varianza de calidad sensorial de mermelada hipocalórica de damasco

Factores de control	Suma cuadrado	Valor F exp	% influencia
Espesante	0,280	5,51*	5,33
Edulcorante	0,547	10,75*	11,52
Aromatizante	2,873	56,38*	65,45
Error	0,610		17,70

* Significativo al $p < 0.05$; $R = 0,823$

El paso siguiente fue determinar la ecuación teórica optimizada considerando los factores de control y niveles óptimos elegidos, con la cual se calculó el valor óptimo de calidad sensorial esperado que resultó ser 4,07. Finalmente para validar los resultados obtenidos en este ensayo de acuerdo a la metodología Taguchi, se elaboró una mermelada con la siguiente combinación de variables y niveles de trabajo: ácido cítrico 0,2%; pectina 2,0%; relación azúcar/aspartame (g/mg) 30/16; aroma de damasco 0,5 mL y tiempo 5 min. Como las variables de control ácido cítrico y tiempo

de cocción resultaron no tener un efecto significativo sobre la respuesta, se tomó la decisión de usar en la ecuación teórica optimizada los niveles inferiores por razones de tipo económico (Tabla 6). Esta muestra experimental fue sometida posteriormente al test sensorial de puntaje compuesto alcanzando un valor de calidad sensorial de 4.16 superior al valor teórico esperado. Es importante señalar además que esta formulación fuera de obtener una buena calificación de calidad sensorial resultó ser de menor costo por la incorporación de menores cantidades de aromatizante, ácido cítrico junto con emplear un menor tiempo de cocción en su elaboración.

TABLA 6

Estabilidad al almacenamiento del sabor de la mermelada de damasco según temperatura y grosor del envase

Condiciones de almacenamiento	Tiempo de almacenamiento (días)				
15°C	15	30	45	75	90
Grosor 0,3 micrones	6	6	8	8	7
Grosor 1,0 micrones	5	5	6	6	6
25°C					
Grosor 0,3 micrones	6	7	7	8	8
Grosor 1,0 micrones	5	4	7	6	7

Número mínimo juicios diferentes = 9, para ser significativo al $p < 0.05$ (31).

Tamaño panel = 11

Ensayo de estabilidad al almacenamiento

Al cabo de noventa días de almacenamiento, las muestras de mermelada de damasco almacenadas bajo diferentes condiciones de temperatura y tipo de envase de polietileno no mostraron diferencias significativas ($p < 0.05$) en el sabor, al contrastarla con la mermelada testigo recién elaborada (Tabla 6), según test discriminador aplicado (31,34).

Desde el punto de vista químico, se hizo un seguimiento de la acidez de las muestras de mermelada cuantificando la concentración de ácido cítrico presente, teniendo como objetivo determinar indirectamente actividad de microorganismos. Al inicio de este ensayo, la concentración de ácido cítrico resultó ser de 1%, valor que no sufrió mayormente grandes variaciones a lo largo de los días de almacenamiento de las muestras, independientemente del grosor del envase de polietileno o de las temperaturas de almacenamiento. Los valores se pueden apreciar en la Tabla 7.

En lo que respecta a los ensayos microbiológicos, completado 90 días de almacenamiento no se detectó crecimiento de hongos y levaduras de acuerdo a las condiciones especificadas del ensayo.

TABLA 7

Variación de la acidez* de la mermelada de damasco según temperatura y grosor del envase

Condiciones de almacenamiento	Tiempo de almacenamiento (días)				
15°C	15	30	45	75	90
Grosor 0,3 micrones	0,99	0,96	0,96	0,93	0,94
Grosor 1,0 micrones	1,07	1,02	0,97	0,95	0,936
25°C					
Grosor 0,3 micrones	1,02	0,95	0,98	0,90	0,95
Grosor 1,0 micrones	1,03	0,98	0,97	0,96	0,97

* % ácido cítrico

La Tabla 8 resume la caracterización químico proximal de la mermelada hipocalórica de damasco. En estos resultados destaca la importante disminución del contenido de azúcares llegando solamente a un 32%. Este valor contrasta con el encontrado en mermeladas tradicionales donde estos energético ambos productos. Así las mermeladas comunes que se comercializan en Chile presentan valores promedios de 260 Kcal/100g, con rangos que oscilan entre 300 Kcal y 240 Kcal (12). Como contraparte, las mermeladas hipocalóricas aportan en promedio 141 Kcal/100g. Esta cifra es superior al resultado obtenido con la mermelada optimizada de damasco que alcanzó un valor de 132 Kcal/100g, representando una buena alternativa para el segmento de consumidores que prefieren este tipo de productos. En lo que respecta al contenido de fibra dietaria el valor encontrado (2.5%) en la formulación optimizada se puede considerar importante para los consumidores por las características beneficiosas para la salud extensamente informada en la literatura.

TABLA 8

Caracterización químico proximal de mermelada hipocalórica optimizada de damasco

Parámetros	g/100g
Humedad	63,47
Proteínas*	0,58
Cenizas	1,24
Fibra dietaria	2,48
Extracto etéreo	0,08
Hidratos de carbono**	32,15
Calorías 100g	132

* Nx6,25; ** Por diferencia

CONCLUSIONES

- Como resultado de la aplicación de la metodología Taguchi para optimizar la formulación de mermeladas dietéticas de damasco, de los cinco factores de control estudiados se demostró a través de los análisis de regresión y de varianza que los que influyen significativamente en la calidad sensorial fueron espesante en su nivel mayor de trabajo, lo mismo sucedió con la mezcla edulcorante (sacarosa/aspartame), mientras que la variable aromatizante lo hizo en su nivel menor. En forma conjunta estas variables independientes tienen un 82% de participación en la calidad sensorial de la mermelada.
- Conocidas las variables que influyen de manera importante en las características sensoriales de la mermelada de damasco, se anexaron los factores no significativos aromatizantes y tiempo de cocción ambos en sus niveles mínimos de trabajo, con lo que fue posible obtener una ecuación teórica que refleja la mejor combinación de las variables seleccionadas en este estudio la que fue válida posteriormente con un ensayo experimental confirmativo.
- En cuanto a la variación de las características sensoriales y químicas de la mermelada de damasco durante el almacenamiento considerando tipo de envase y temperatura, no se detectaron diferencias significativas tanto en el sabor como en la acidez del producto.
- Desde el punto de vista microbiológico el producto formulado presenta una excelente estabilidad bajo las condiciones controladas del ensayo debido a que no se observó desarrollo de microorganismos durante los 90 días que duró el almacenamiento.
- La mermelada hipocalórica optimizada constituye una buena alternativa para el segmento de consumidores que prefieren este tipo de productos por razones estéticas y de salud, debido a la presencia de a) menos cantidad de hidratos de carbono con respecto a las mermeladas tradicionales, que se traduce en un valor calórico de 132 Kcal/100g inferior al promedio de similares productos elaborados en Chile, y b) un contenido interesante de fibra dietaria.
- Se demuestra que la metodología Taguchi es una herramienta estadística valiosa para resolver experiencias en las cuales la respuesta afecta por múltiples factores. La estrategia utilizada por esta metodología a diferencia del enfoque tradicional ensayo error, permite llegar a conclusiones válidas, disminuyendo el número de ensayos experimentales lo que influye favorablemente en el costo de las experiencias.

REFERENCIAS

1. Pascal G. Collet-Ribbing C. "Las perspectivas europeas sobre alimentos funcionales". <http://www.jrc.es/iptsreport/vol24/spanish/F001S246.html>. 1997.
2. Van den Broeck A. Functional foods: The Japanese approach. *Food Ingredients*. 1993;1:4-9.
3. Kawazoe K. "Funcional foods and ingredients in Japan". *Food Ingredients*. 1994;5:43-45.
4. Rowan C. Functional phenomena. *Food Ingredients*. 1999;1:27-28.
5. Atalah E. Nutrición y cáncer. *Nutrición y salud*. U. Chile. Facultad de Medicina. Dpto. de Nutrición. Santiago. Chile. 1996.
6. Fuller R. Probiotics in human medicine. *Gut*. 1991;32:439-442.
7. Diario El Mercurio. "Segmentado hasta el infinito". *Cuerpo B. Economía y Negocios*. 28 de mayo. 2000. Santiago, Chile.
8. Rauch GH. Fabricación de mermeladas. 2da. Ed. Edit. Acribia. Zaragoza, España. 1980.
9. Reglamento Sanitario de los Alimentos. Ministerio de Salud. República de Chile. Decreto 977. 1997.
10. Instituto Nacional de Normalización (INN) "Normas Chilenas Oficial para mermeladas de frutas". NCh 456. Of70. Chile. 1999.
11. Hoogenkam H. Lifestyle and food megachanges for megamarkets. *Food Ingredients* 1994;N° 3:23-29.
12. Servicio Nacional del Consumidor. SERNAC. "Las mermeladas, consumo y calidad de vida". 1996;N°71:6-8.
13. Rozoswky J. Prevalencia de la obesidad en Chile. *Boletín de la Escuela de Medicina*. Universidad de Católica de Chile. 1997;26:5-9.
14. Maiz A. Consecuencias patológicas de la obesidad. Hipertensión, diabetes, dislipidemia. *Boletín de la Escuela de Medicina*. Universidad Católica de Chile. 1997;26:18-21.
15. Uauy R, Albala C, Kain J. Obesity trends in Latinoamérica. Transit from under to overweight. *J Nutr* 2001;131:893-899.
16. De la Paz P. Alarmante aumento de la obesidad en Chile. *Ciencia y Salud*. La tercera. 2001.
17. Romo M. El problema de la obesidad en Chile. Globalización de las pautas culturales de alimentación. IV Congreso de Antropología. Noviembre. Santiago, Chile. 2001.
18. Saavedra V. "La obesidad en Chile". *Revista Chilena de Obesidad*. 1998;5-9.
19. Proop S. Una comparación entre los mercados de alimentos funcionales en la Unión Europea, Estados Unidos y Japón. Report of Intitute for Prospective Technological Studies (IPTSREPORT). European Commision. 1998.
20. Rebolledo M, Sangroni E, Barbosa-Cánovas GV. "Evaluación de galletas dulces enriquecidas con germen de maíz y fibra de soya". *Archi Latinoamer Nutr*. 1999;49(3):253-259.
21. Araya JA. La dieta, primera línea de defensa para reducir el colesterol. *Rev Chil Nutr*. 1990;23(1):7-15.
22. Pak N, Araya H. Efecto hipocolesterolémico de salvado de avena. *Rev Chil Nutr*. 1991;19(1):7-16.
23. Dávila V. "Diseño de una bebida carbonatada agrídulce, con sabor a naranja, maximizando su aceptación mediante Método

- Taguchi". Tesis para optar al título de Licenciado en Nutrición y Ciencia de los Alimentos. Universidad Iberoamericana. México. 1996.
24. Dean E. "Método Taguchi", <http://www.dnh.mv.net/pusers/rm/loss.htm>. 1998.
 25. Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey. ITESTM. Centro de Calidad Programa Taguchi-QFD. "Introducción a la Ingeniería de la Calidad", México. 1989.
 26. Peace SG. Taguchi Methods. Addison- Wesley Publishing Company. INC. 1992.
 27. Taguchi G. "Introduction to a Quality Engineering". Ed. Asian Productivity Organization. Tokio, Japón. 1986.
 28. Taguchi G, Konishi S. "Arreglos ortogonales y gráficas lineales". Herramientas para la ingeniería de calidad. Centro de Formación Profesional para la Calidad. Instituto Politécnico de Monterrey. México. 1988.
 29. Rangit R. A primer on the Taguchi method. Van nostrand reinhold. New York, USA. 1990.
 30. Marfil RC. "Método Taguchi, una herramienta para el mejoramiento de la calidad". Tecnología de los Alimentos. 1991;26(5):14-33.
 31. Wittig E. "Evaluación sensorial, una metodología actual para tecnología de alimentos". 1ra. Edición. Talleres gráficos USACH. Santiago, Chile. 1981.
 32. Association of Official Analytical Chemists A.O.A.C. Official Methods of Analysis. 15th Edition, The Association. Washington D.C. 1990.
 33. Instituto de Salud Pública de Chile. Ministerio de Salud. "Manual de Técnicas Microbiológicas para Alimentos y Agua". 1998.
 34. Ureña M, D'Arrigo M. "Evaluación Sensorial de los Alimentos". Universidad Agraria de la Molina. Editorial Agraria. Lima, Perú. 1999.
 35. Qualitek-4. Automatic Design and Analysis of Taguchi Experiments. NUTEX, Ince, USA. 2000.
 36. Gacula SJ. "Statistical methods in food and costumer research. Academic Press, Inc. Orlando, Florida. 1984.
 37. Giovanni M. "Response surface methodology and product optimization". Food Technol. 1983;37:41-45.

Recibido: 22-03-2002

Aceptado: 16-10-2002

NOTAS

Premio Fred L. Soper 2003. La Fundación Panamericana de la Salud y Educación tiene el agrado de anunciar el concurso al Premio 2003 Dr. Fred L. Soper para trabajos de excelente calidad en la bibliografía de salud que revistan importancia en el campo de la salud interamericana. Este premio se concede en conmemoración de la labor del Dr. Soper, Director de la Organización Panamericana de la Salud de 1947 a 1959, quien durante cincuenta años realizó

destacadas contribuciones a la salud en las Américas. El premio consiste en un diploma al mérito y un premio en efectivo de EUA\$ 2.500.

Los artículos presentados a concurso deberán recibirse el 30 de Junio del 2003.

Información detallada sobre el premio puede encontrarse en:
Web: www.paho.org/Spanish/PAHEF/soper.htm

NUEVOS LIBROS

Food and Health in Europe: A new basis for action

Table of contents

1. The burden of disease and the importance of food:

Nutrition's effect on the burden of disease. Increasing concern about food safety. Food and nutrition insecurity.

2. Policy coordination:

Multisectoral policies for nutrition and food security. Multisectoral policies for food safety.

3. Policies for the 21st century:

Sustainable and healthy food production. Action to protect health. WHO's commitment.

4. The way forward

WHO Regional Office for Europe, Copenhagen 2002, viii + 30 pages.

ISBN 92 890 1364 8

Swiss francs 15.-/US \$13.50

In developing countries: Swiss francs 10.50

Order N° 1340047

Alimentos Funcionales. Probióticos.

Editores: R.M. Ortega; A. Marcos; J. Aranceta; J.A. Mateos; A.M. Requejo y L. Serra. Coordinadores científicos: J.M. Cobo; A. Burnat y A.M. López-Sobaler.

Editorial Médica Panamericana, S.A. ISBN; 84-7903-757-1. 164 pags. 2002.

“El presente libro revisa de forma rigurosa y concisa el papel de los distintos probióticos en la salud humana de la mano de los mejores especialistas en la materia...” Este párrafo tomado del Prólogo que el Profesor Lluís Serra Majem hace de la publicación, es sin duda, una acertada descripción de su contenido. La obra de práctica e impecable presentación, conforma en sus diferentes secciones una exposición bien documentada sobre un tema en cierto modo

polémico y podríamos añadir no del todo preciso en cuanto a definiciones y conceptos, como lo es el de los alimentos funcionales y los probióticos. Así en rigor, cualquier alimento - una zanahoria, un tomate, un brócoli - serían funcionales. Tal como con igual acierto se lee en la Presentación, estos conceptos “...son muy valorados y utilizados frecuentemente, sin un conocimiento claro de su significado real”.

El libro se inicia con la Presentación seguida del Prólogo, para entregar luego 15 Capítulos distribuidos en 3 partes, finalizando con un Índice Analítico. Cada Capítulo incluye bibliografía seleccionada y actualizada sobre el tema desarrollado. El contenido es como sigue: **Parte I.** Generalidades y Características de los Alimentos Funcionales. Alimentos funcionales. Nuevas tendencias. - Regulación legislativa en alimentos funcionales. - Disponibilidad y consumo de probióticos en España. - Ecología intestinal: modulación mediante probióticos. - Tipos y procesos tecnológicos. - Aspectos básicos de la tecnología de las leches fermentadas. - Identificación y viabilidad de bifidobacterias. **Parte II.** Efectos de los Probióticos sobre la Salud. Repercusión del consumo de probióticos en el estado nutricional. - Alimentos funcionales y masa ósea. - Alimentación y respuesta inmunitaria. - Probióticos y diarrea crónica. - Probióticos y alergia alimentaria. - Probióticos en la dermatitis atópica e infecciones urogenitales. - El papel de los probióticos en la prevención del cáncer. **Parte III.** Guía para el Consumo. Guía para el consumo de probióticos. - Índice Analítico.

El libro hace sostenida referencia a la legislación europea y en particular a la situación y legislación en España, como es de esperarse, dada la nacionalidad de la mayoría de los autores y al origen de la obra, ello no es en modo alguno, óbice para destacar la excelencia y méritos del presente libro el cual conceptuamos, debe ser de obligada lectura para aquellos interesados en el tema Alimentos Funcionales. Probióticos.

José Félix Chávez Pérez

INFORMACION PARA LOS AUTORES

En 1950 el Instituto Nacional de Nutrición de Venezuela edita su revista Archivos Venezolanos de Nutrición la cual en 1965 es donada a la recién creada Sociedad Latinoamericana de Nutrición, SLAN, para convertirse en su órgano oficial de divulgación Archivos Latinoamericanos de Nutrición, ALAN.

ALAN acoge en sus páginas trabajos de revisión, editoriales, conferencias y simposia y trabajos científicos originales sobre temas relacionados con alimentación y nutrición, entre ellos, ciencia y tecnología de alimentos, nutrición humana y animal, bioquímica nutricional aplicada, nutrición clínica y comunitaria, educación en nutrición y microbiología de alimentos.

Todos los artículos que se publican pasan por un proceso de arbitraje externo. El Comité Editorial no se hace responsable de los conceptos emitidos en los artículos aceptados para ser publicados y se reserva el derecho de no publicar los originales que no se ajusten a los lineamientos de la revista. No se devolverán originales ni se mantendrá correspondencia sobre aquellos que no sean publicados. ALAN se reserva los derechos de reproducción de los artículos seleccionados.

ALAN se acoge a las normas de los requisitos uniformes del Comité Internacional de Directores de Revistas Médicas (CIDRM), también conocido como el Grupo de Vancouver, en su quinta edición (1997) de los requisitos uniformes para preparar los manuscritos enviados a revistas biomédicas (1). A continuación se reproduce esta publicación y se añaden algunas recomendaciones específicas, para ALAN.

Requisitos para la presentación de manuscritos a una revista

Resumen de los requisitos técnicos

- Todas las partes del manuscrito estarán a doble espacio.
- Cada sección o componente comenzará en página nueva.
- Revise la secuencia: página del título, resumen y palabras clave, texto agradecimientos, referencias, cuadros (cada uno en página aparte), pies e epígrafes de las ilustraciones.
- Las ilustraciones se presentarán en forma de impresiones fotográficas sin tomar, y no deberán exceder de 203 x 254 mm.
- Incluya la autorización para reproducir material publicado con anterioridad o para usar ilustraciones en las que se pueda identificar a los sujetos humanos.
- Adjunte la transferencia de los derechos de autor y otros formularios.
- Presente el número exigido de copias impresas del artículo (ALAN exige original y 3 copias).
- Guarde copias de todo lo que envíe.

Preparación del manuscrito

El texto de los artículos de observación y experimentales se divide generalmente, aunque no por fuerza, en secciones que llevan estos encabezamientos: introducción, métodos, resultados y discusión. En los artículos largos puede ser necesario agregar subtítulos dentro de estas secciones, sobre todo en las de resultados y discusión, a fin de hacer más claro el contenido. Es probable que otro tipo de artículos -como los informes de casos, las revisiones y los editoriales- exijan otra estructura. Para mayor orientación, los autores deberán consultar la revista en la que pretenden publicar.

Mecanografíese el manuscrito en papel bond blanco de 216 x 280 mm o de la medida estándar ISO A4 (212 x 297 mm), con márgenes de por lo menos 25mm (ALAN prefiere la medida de 216 x 280 mm). Escríbase o imprímase solamente sobre una cara del papel. Utilícese doble espacio a lo largo de todo el manuscrito, incluido la página del título, el resumen, el texto los agradecimientos, las referencias, cada uno de los cuadros y los pies o epígrafes de las ilustraciones. Numérense las páginas en forma consecutiva, empezando por las del título. Sobre el ángulo superior o inferior derecho de cada página anótese el número que le corresponde.

Página del título

La primera página contendrá: 1) el título del artículo, que será conciso pero informativo; 2) nombre de pila preferido y apellidos de cada autor, acompañados de sus grados académicos más importantes y su afiliación institucional; 3) nombre del departamento o departamentos y la institución o instituciones a los que se debe atribuir el trabajo; 4) declaraciones de descargo de responsabilidad, si las hay; 5) nombre y dirección del autor que se ocupará de la correspondencia relativa al manuscrito; 6) nombre y dirección del autor a quien se dirigirán las solicitudes de separatas, o nota informativa de que los autores no las proporcionarán; 7) procedencia del apoyo recibido en forma de subvenciones, equipo, medicamentos o todo ello; y 8) título abreviado (titulillo) que no pase de 40 pulsaciones (contando caracteres y espacios), el cual se colocará, debidamente identificado como tal, en la última línea de la página inicial.

Autoría

Todas las personas designadas como autores habrán de cumplir con ciertos requisitos para tener derecho a la autoría. Cada autor

(1) Requisitos uniformes para preparar los manuscritos enviados a revistas biomédicas. Rev Panam Salud Pública. Pan-Am J Pub Health. 1998;3(3):188-1998.

debe haber participado en el trabajo en grado suficiente para asumir responsabilidad pública por su contenido. Para concederle a alguien el crédito de autor, hay que basarse únicamente en su contribución esencial por lo que se refiere a los siguientes aspectos: 1) la concepción y el diseño o bien el análisis y la interpretación de los datos; 2) la redacción del artículo o la revisión crítica de una parte importante de su contenido intelectual; y 3) la aprobación final de la versión que será publicada. Las tres condiciones tendrán que cumplirse siempre. La participación que consiste meramente en conseguir financiamiento o recoger datos no justifica el crédito de autor. Tampoco basta con ejercer la supervisión general del grupo de investigación. Toda parte del artículo que sea decisiva con respecto a las conclusiones principales deberá ser responsabilidad de por lo menos uno de los autores. Los directores de revistas podrán solicitar a los autores que describan la contribución de cada uno; esa información puede ser publicada.

Cada vez es más común que los ensayos multicéntricos se atribuyan a un autor corporativo. Todos los miembros del grupo que sean designados como autores, ya sea en la línea destinada al nombre de los autores a continuación del título o en una nota a pie de página, deberán cumplir plenamente con los requisitos de requisitos de autoría recién señalados. Los miembros del grupo que no cumplan con dichos criterios serán mencionados, con su autorización, en la sección de agradecimientos o en un apéndice (véase "Agradecimientos").

El orden en que figuran los autores debe reflejar una decisión conjunta de estos. Como los autores se suelen enumerar de distintas maneras, el significado del orden en que aparecen no puede deducirse con exactitud a menos que ellos mismos lo enuncien explícitamente. Para tal efecto, tal vez deseen agregar, en una nota a pie de página, la explicación sobre el orden de enumeración. Al decidir acerca de dicho orden, los autores tendrán presente que muchas revistas imponen un límite al número de autores que figuran en el índice de materias y que, cuando hay más de 25 autores, la Biblioteca Nacional de Medicina de los Estados Unidos incluye en MEDLINE tan solo los nombres de los 24 primeros más el del último.

Resumen y palabras clave

La segunda página incluirá un resumen que no sobrepasará las 250 palabras de extensión. En él indicaran los propósitos del estudio o investigación; los procedimientos básicos (selección de los sujetos o los animales de laboratorio incluidos en el estudio; métodos de observación y análisis); los hallazgos más importantes (proporciónense datos específicos y, de ser posibles, su significación estadística), y las conclusiones principales. Hágase hincapié en los aspectos nuevos e importantes del estudio o las observaciones.

A continuación del resumen agréguese, debidamente rotuladas, de 3 a 10 palabras o frases cortas clave que ayuden a los indizadores a clasificar el artículo, las cuales se publicarán junto con el resumen. Utilícese para este propósito los términos de la lista "Medical Subject Headings" (MeSH) [Encabezamientos de temas médicos] del Index Medicus; en el caso de términos de reciente aparición que todavía no figuren en dicha lista, podrán usarse las expresiones corrientes. ALAN exige que todo trabajo deberá acompañarse de un Resumen en inglés con sus palabras clave, "key words", si el trabajo original fuese en español, portugués o francés. Si el trabajo original es en inglés, el Resumen debe presentarse en español,

igualmente con sus palabras clave.

Introducción

Expresé el propósito del artículo y resume el fundamento lógico del estudio u observación. Menciones las referencias estrictamente pertinentes y no incluya datos ni conclusiones del trabajo que está dando a conocer.

Métodos

Describa claramente la forma como se seleccionaron los sujetos observados o que participaron en los experimentos (pacientes o animales de laboratorio, incluidos los testigos). Identifique la edad, el sexo y otras características importantes de los sujetos. La definición y la pertinencia de la raza o el grupo étnico son ambiguos. Los autores deberán ser particularmente cuidadosos con respecto a usar estas categorías.

Identifique los métodos, los aparatos (nombre y dirección del fabricante entre paréntesis) y los procedimientos con detalles suficientes para que otros investigadores puedan reproducir los resultados. Proporcione referencias de los métodos acreditados, incluidos los de índole estadística (véase más adelante); dé referencias y explique brevemente los métodos ya publicados pero que no son bien conocidos; describa los métodos nuevos o que han sido sustancialmente modificados, manifestando las razones por las cuales se usaron y evaluando sus limitaciones. Identifique exactamente todos los medicamentos y productos químicos utilizados, sin olvidar nombres genéricos, dosis y vías de administración.

Los informes de ensayos clínicos aleatorizados deberán presentar información sobre todos los elementos importantes del estudio, como son el protocolo (población de estudio, intervenciones o exposiciones, resultados y el fundamento lógico del análisis estadístico), asignación de intervenciones (métodos de aleatorización, ocultamiento de la asignación a los grupos de tratamiento) y método de enmascaramiento (método ciego).

Los autores que presenten manuscritos de revisión incluirán una sección en la que se describan los métodos utilizados para localizar, seleccionar, extraer y sintetizar los datos. Estos métodos se mencionarán también en forma sinóptica en el resumen.

Ética. Cuando informe sobre experimentos en seres humanos, señale si los procedimientos seguidos estuvieron de acuerdo con las normas éticas del comité (institucional o regional) que supervisa la experimentación en seres humanos o con la Declaración de Helsinki de 1975, modificada en 1983. No utilice el nombre de los pacientes, sus iniciales ni los códigos hospitalarios, especialmente en el material ilustrativo. Cuando dé a conocer experimentos con animales, mencione si se cumplieron las normas de la institución, las de un consejo nacional de investigación o cualquier ley nacional acerca del cuidado y el uso de animales de laboratorio.

Estadística. Describa los métodos estadísticos con detalles suficientes para que el lector versado en el tema y que tenga acceso a los datos originales pueda verificar los resultados presentados. Siempre que sea posible, cuantifique los resultados y preséntelos con indicadores apropiados de error o incertidumbre de la medición

(por ej., intervalos de confianza). No dependa exclusivamente de las pruebas de comprobación de hipótesis estadísticas, tales como el uso de los valores *P*, que no transmiten información cuantitativa importante. Analice la elegibilidad de los sujetos de experimentación. Proporcione los detalles del proceso de aleatorización. Describa los medios utilizados para enmascarar las observaciones (método ciego), indicando los resultados que dieron. Informe sobre las complicaciones del tratamiento. Especifique el número de observaciones. Mencione las pérdidas de sujetos de observación (por ej., las personas que abandonan un ensayo clínico). Siempre que sea posible, las referencias sobre el diseño del estudio y los métodos estadísticos utilizados serán de trabajos vigentes (indicando el número de las páginas), y no de los artículos originales donde se describieron por vez primera. Especifique cualquier programa de computación de uso general que se haya empleado. Las descripciones generales de los métodos utilizados deben aparecer en la sección de métodos. Cuando resuma los datos en la sección de resultados, especifique los métodos estadísticos que se emplearon para analizarlos. Limite el número de cuadros y figuras al mínimo necesario para explicar el tema central del artículo y para evaluar los datos en que se apoya. Use gráficas en vez de cuadros subdivididos en muchas partes; no duplique los datos en las gráficas y los cuadros. Evite el uso no técnico de términos de la estadística, tales como «al azar» (que entraña el empleo de un método de aleatorización), «normal», «significativo», «correlaciones» y «muestra». Defina los términos, las abreviaturas y la mayor parte de los símbolos estadísticos.

Resultados

En el texto, los cuadros y las ilustraciones, presente los resultados siguiendo una secuencia lógica. No repita en el texto todos los datos de los cuadros ni de las ilustraciones; destaque o resuma tan solo las observaciones importantes.

Discusión

Haga hincapié en los aspectos nuevos e importantes del estudio y en las conclusiones que se derivan de ellos. No repita con pormenores los datos u otra información ya presentados en las secciones de introducción y de resultados. Explique en la sección de discusión el significado de los hallazgos y sus limitaciones, incluidas sus implicaciones para la investigación futura. Relacione las observaciones con otros estudios pertinentes.

Establezca el nexo entre las conclusiones y los objetivos del estudio, pero absténgase de hacer afirmaciones generales y extraer conclusiones que no estén completamente respaldadas por los datos. En particular, los autores evitarán hacer afirmaciones sobre los beneficios y los costos económicos, a menos que su manuscrito incluya datos y análisis económicos. No reclame ningún tipo de precedencia ni mencione trabajos que no estén terminados. Proponga nuevas hipótesis cuando haya justificación para ello, pero identificándolas claramente como tales. Cuando sea apropiado, puede incluir recomendaciones.

Agradecimientos

En un lugar adecuado del artículo (como nota al pie de la primera

página o como apéndice del texto; véanse los requisitos de la revista) uno o varios enunciados especificarán lo siguiente: 1) las colaboraciones que deben ser reconocidas pero que no justifican la autoría, tales como el apoyo general del jefe del departamento; 2) el reconocimiento por la ayuda técnica recibida; 3) el agradecimiento por el apoyo financiero y material, especificando la índole del mismo; y 4) las relaciones que puedan suscitar un conflicto de intereses (véase «Conflicto de intereses»).

Las personas que colaboraron intelectualmente en el artículo pero cuya participación no justifica la autoría pueden ser citadas por su nombre, añadiendo su función o tipo de colaboración; por ejemplo, «asesoramiento científico», «examen crítico de la propuesta para el estudio», «recolección de los datos» o «participación en el ensayo clínico». Estas personas tendrán que conceder su permiso para ser nombradas. Los autores se responsabilizarán de obtener la autorización por escrito de las personas mencionadas por su nombre en los agradecimientos, pues los lectores pueden inferir que estas respaldan los datos y las conclusiones.

El reconocimiento por la ayuda técnica recibida figurará en un párrafo separado de los testimonios de gratitud por otras contribuciones.

Referencias

Numere las referencias consecutivamente siguiendo el orden en que se mencionan por primera vez en el texto. En este, en los cuadros y en los pies o epígrafes de las ilustraciones, las referencias se identificarán mediante números arábigos entre paréntesis. Las referencias citadas solamente en cuadros o ilustraciones se numerarán siguiendo una secuencia que se establecerá por la primera mención que se haga en el texto de ese cuadro o esa figura en particular.

Emplee el estilo de los ejemplos que aparecen más adelante, los cuales están basados en el formato que la Biblioteca Nacional de Medicina de los Estados Unidos usa en el *Index Medicus*. Abrevie los títulos de las revistas de conformidad con el estilo utilizado en dicha publicación. Consulte la *List of Journals Indexed in Index Medicus* [Lista de revistas indizadas en *Index Medicus*], que se publica anualmente como parte del número de enero y como separata. La lista se puede obtener asimismo en el sitio que la biblioteca mantiene en la World Wide Web (<http://www.nlm.nih.gov>).

Absténgase de utilizar los resúmenes como referencias. Las referencias a artículos que han sido aceptados pero que todavía no se publican se designarán como «en prensa» o «de próxima aparición»; los autores obtendrán por escrito el permiso para citar dichos artículos y también la verificación de que han sido aceptados para publicación. La información proveniente de manuscritos presentados para publicación pero aún no aceptados se citará en el texto como «observaciones inéditas», con el permiso correspondiente de la fuente.

No cite una «comunicación personal» a menos que aporte información esencial que no pueda obtenerse de una fuente pública: en ese caso, el nombre de la persona y la fecha de la comunicación aparecerán entre paréntesis en el texto. En el caso de artículos científicos, los autores deberán obtener el permiso de la fuente y su confirmación de la exactitud de la comunicación personal, ambos

por escrito. Los autores verificarán las referencias cotejándolas contra los documentos originales.

El estilo de los requisitos uniformes (estilo de Vancouver) se basa en gran medida en una norma de estilo ANSI adaptada por la Biblioteca Nacional de Medicina (NLM) para sus bases de datos. En los ejemplos que siguen se han agregado notas cuando el estilo de Vancouver difiere del estilo que actualmente utiliza la NLM.

Artículos de revista

1. Artículo de revista ordinario

Enumere los primeros seis autores y añada la expresión «et al.» (Nota: La NLM incluye ahora hasta 25 autores; si hay más de 25, enumera los primeros 24, continuación el último autor y luego agrega «et al.»)

Vega KJ, Pina I, Krevsky B. Heart transplantation is associated with an increased risk for pancreatobiliary disease. *Ann Intern Med* 1996 Jun 1;124(11):980-3.

Optativamente, si se utiliza la paginación continua a lo largo de un volumen (como hacen muchas revistas médicas), se pueden omitir el mes y el número.

(Nota: Para respetar la uniformidad, en todos los ejemplos que se presentan en los requisitos uniformes se aplica esta opción. La NLM, sin embargo, no usa dicha opción.)

Vega KJ, Pina I, Krevsky B. Heart transplantation is associated with an increased risk for pancreatobiliary disease. *Ann Intern Med* 1996;124:980-3.

Más de seis autores:

Parkin DM, Clayton D, Black Rj, Masuyer E, Friedl HP, Ivanov E, et al. Childhood leukaemia in Europe after Chernobyl: 5 year follow-up. *Br J Cancer* 1996;73:1006-12.

2.. Organización como autor

The Cardiac Society of Australia and New Zealand. Clinical exercise stress testing. Safety and performance guidelines. *Med J Aust* 1996;164:282-4.

3. No se indica el nombre del autor

Cancer in South Africa [editorial]. *S Afr Med J* 1994;84:15.

4. Artículo en idioma extranjero (2)

(Nota: La NLM traduce el título al inglés, lo encierra entre corchetes y le agrega la abreviatura correspondiente al idioma original.)

Ryder TE, Haukeland EA, Solhaug JH. Bilateral infrapatellar seneruptur hos tidligere frisk kvinne. *Tidsskr Nor Laegeforen* 1996; 116:41-2.

5. Suplemento de un volumen

Shen HM, Zhang QF. Risk assessment of nickel carcinogenicity and occupational lung cancer. *Environ Health Perspect* 1994;102 Suppl 1:275-82.

6. Suplemento de un número

Payne DK, Sullivan MD, Massie Mj. Women's psychological reactions to breast cancer. *Semin Oncol* 1996;23(1 Suppl 2): 89-97.

7. Parte de un volumen

Ozben T, Nacitarhan S, Tuncer N. Plasma and urine sialic acid in non-insulin dependent diabetes mellitus. *Ann Clin Biochem* 1995;32(Pt 3):303-6.

8. Parte de un número

Poole GH, Mills SM. One hundred consecutive cases of flap lacerations of the leg in ageing patients. *N Z Med J* 1994;107(986 Pt 1):377-8.

9. Número sin volumen

Turan I, Wredmark T, Fellander-Tsai L. Arthroscopic ankle arthrodesis in rheumatoid arthritis. *Clin Orthop* 1995;(320): 110-4.

10. Sin número ni volumen

Browell DA, Lennard TW. Immunologic status of the cancer patient and the effects of blood transfusion on antitumor responsos. *Curr Opin Gen Surg* 1993:325-33.

11. Paginación en números romanos

Fisher GA, Sikic BI. Drug resistance in clinical oncology and hematology. Introduction. *Hematol Oncol Clin North Am* 1995 Apr;9(2):xi-xii.

12. Indicación del tipo de artículo, según corresponda

Enzensber er W, Fischer PA. Metronome in Parkinson,s disease [carta]. *Lancet* 1996;347:1337.
Clement J, De Bock R. Hematological complications of hantavirus nephropathy (HVN) [resumen]. *Kidney Int* 1992;42:1285.

13. Artículo que contiene una retractación

Garey CE, Schwarzman AL, Rise ML, Seyfried TN. Ceruloplasmin

(2) Evidentemente "extranjero" se entiende aquí en relación con el idioma inglés, pues los ejemplos de referencia bibliográfica se han trasladado directamente del original, sin adaptarlos (N. Del t.).

gene defect associated with epilepsy in EL mice [retractación de Garey CE, Schwarzman AL, Rise ML, Seyfried TN. En: Nat Genet 1994;6:426-31]. Nat Genet 1995;11: 104.

14. Artículo retirado por retractación

Liou GI, Wang M, Matragoon S. Precocious IRBP gene expression during mouse development [retirado por retractación en Invest Ophthalmol Vis Sci 1994;35:3127]. Invest Ophthalmol Vis Sci 1994;35:1083-8.

15. Artículo sobre el que se ha publicado una fe de erratas

Hamlin JA, Kahn AM. Herniography in symptomatic patients following inguinal hernia repair [se publica una fe de erratas en West J Med 1995;162:278]. West j Med 1995; 162:28-31.

Libros y otras monografías

(Nota: Con anterioridad, el estilo de Vancouver indicaba, incorrectamente, que entre la editorial y la fecha debía ir una coma en vez de punto y coma, como debe ser.)

16. Individuos como autores

Ringsven MK, Bond D. Gerontology and leadership. skills for nurses. 2nd ed. Albany (NY): Delmar Publishers; 1996.

17. Directores ("editores"), compiladores como autores

Norinan IJ, Redfern SJ, editors. Mental health care for elderly people. New York: Churchill Livingstone; 1996.

18. Organización como autor y editorial

Institute of Medicine (US). Looking at the future of the Medicaid program. Washington: The Institute; 1992.

19. Capítulo de libro

(Nota: Con anterioridad, el estilo de Vancouver prescribía el uso de dos puntos en vez de la letra p antes de las páginas.)

Phillips SJ, Whisnant JP. Hypertension and stroke. En: Laragh JH, Brenner BM, editors. Hypertension: pathophysiology, diagnosis, and management. 2nd ed. New York: Raven Press; 1995. p. 465-78.

20. Actas de conferencias

Kimura j, Shibasaki H, editors. Recent advances in clinical neurophysiology, Proceedings of the 10th International Congress of EMG and Clinical Neurophysiology; 1995 Oct 15-19; Kyoto, Japan. Amsterdam: Elsevier; 1996.

21. Artículo presentado en una conferencia

Bengtsson S, Tolheim BG. Enforcement of data protection, privacy

and security in medical informatics. En: Lun KC, Degoulet P, Piemme TE, Rienhoff O, editors. MEDINFO 92. Proceedings of the 7th World Congress on Medical Informatics; 1992 Sep 6-10; Geneva, Switzerland. Amsterdam: North-Holland; 1992. p. 1561-5.

22. Informe científico o técnico

Publicado por la institución financiadora o patrocinadora: Smith P, Golladay K. Payment for durable medical equipment billed during skilled nursing facility stays. Final report. Dallas (TX): Dept. of Health and Human Services (US), Office of Evaluation and Inspections; 1994 Oct. Report No.: HHSIGOE169200860.

Publicado por la institución ejecutora:

Field MjJ Tranquada RE, Feasley JC, editors. Health services research: work force and educational issues. Washington: National Academy Press; 1995. Contract No.: AHCPR282942008. Sponsored by the Agency for Health Care Policy and Research.

23. Tesis doctoral

Kaplan SJ. Post-hospital home health care: the elderly's access and utilization [tesis doctoral]. St. Louis (MO): Washington Univ.; 1995.

24. Patente

Larsen CE, Trip R, Johnson CR, inventors; Novoste Corporation, titular. Methods for procedures related to the electrophysiology of the heart. US patent 5,529,067. 1995 jun 25.

Otros trabajos publicados

25. Artículo de periódico

Lee C. Hospitalizations tied to ozone pollution: study estimates 50,000 admissions annually. The Washington Post 1996 Jun 21; Sect. A:3 (col. 5).

26. Material audiovisual

HIV+/AIDS: the facts and the future [videocassette]. St. Louis (MO): Mosby-Year Book; 1995.

27. Documentos legales

Ley pública:
Preventive Health Amendments of 1993, Pub. L. No. 103-183. 107 Stat. 2226 (Dec. 14, 1993).

Proyecto de ley sin sancionar:
Medical Records Confidentiality Act of 1995, S. 1360, 104th Cong. 1 st Sess. (1995).

Código de normas federales:
Informed Consent, 42 C.F.R. Sect. 441.257 (1995).

Audiencia:

Increased Drug Abuse: the Impact on the Nation's Emergency Rooms: Hearings Before the Subcomm. on Human Resources and Intergovernmental Relations of the House Comm. on Government Operations, 103rd Cong., 1st Sess. (May 26,1993).

28. Mapa

North Carolina. Tuberculosis rates per 100,000 population, 1990 [mapa demográfico]. Raleigh: North Carolina Dept. of Environment, Health, and Natural Resources, Div. of Epidemiology; 1991.

29. Libro de la Biblia

The Holy Bible. King James version. Grand Rapids (MI): Zondervan Publishing House; 1995. Ruth 3:1-18.

30. Diccionarios y obras de consulta semejantes

Stedman's medical dictionary. 26th ed. Baltimore: Williams & Wilkins; 1995. Apraxia; p.119-20.

31. Obras clásicas

The Winter's Tale: act 5, scene 1, lines 13-16. The complete works of William Shakespeare. London: Rex; 1973.

Trabajos inéditos

32. En prensa

(Nota: La NLM prefiere referirse a estos trabajos como «en preparación» [forthcoming] porque no todos se publicarán impresos.)

Leshner Al. Molecular mechanisms of cocaine addiction. N Engl J Med. En prensa 1996.

Material en soporte electrónico

33. Artículo de revista en formato electrónico

Morse SS. Factors in the emergence of infectious diseases. Emerg Infect Dis [publicación periódica en línea] 1995 jan-mar [citada 1996 jun 51;1(1):{24 pantallas}. Se consigue en: URL: <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/eid.htm>

34. Monografía en formato electrónico

CDI, clinical dermatology illustrated [monografía en CD-ROM]. Reeves JRT, Maibach H. CMEA Multimedia Group, producers. 2nd ed. Version 2.0. San Diego: CMEA; 1995.

35. Fichero de computadora

Hemodynamics 111: the ups and downs of hemodynamics [programa de computadora]. Version 2.2. Orlando (FL): Computerized Educational Systems; 1993.

Cuadros

Mecanographe o imprima cada cuadro a doble espacio y en hoja aparte. No presente los cuadros en forma de impresiones fotográficas. Numérelos consecutivamente siguiendo el orden en que se citan por primera vez en el texto, y asigne un título breve a cada uno. Cada columna llevará un encabezamiento corto o abreviado. Las explicaciones irán como notas al pie y no en el encabezamiento. En las notas al pie se explicarán todas las abreviaturas no usuales empleadas en cada cuadro. Como llamadas para las notas al pie, utilídense los símbolos siguientes en la secuencia que se indica: *, †, ‡, †, **, ††, †‡.

Identifique las medidas estadísticas de variación, tales como la desviación estándar y el error estándar de la media.

No trace líneas horizontales ni verticales en el interior de los cuadros. Cerciórese de que cada cuadro aparezca citado en el texto.

Si incluye datos publicados o inéditos provenientes de otra fuente, obtenga la autorización necesaria para reproducirlos y conceda el reconocimiento cabal que corresponde. Incluir un número excesivo de cuadros en relación con la extensión del texto puede ocasionar dificultades al confeccionar las páginas. Examine varios números recientes de la revista a la que planea presentar el artículo y calcule cuántos cuadros pueden incluirse por cada millar de palabras de texto. Al aceptar un artículo, el director podrá recomendar que los cuadros suplementarios que contienen datos de respaldo importantes, pero que son muy extensos para publicarlos, queden depositados en un servicio de archivo, como el Servicio Nacional de Publicaciones Auxiliares en los Estados Unidos, o que sean proporcionados por los autores a quien lo solicite. En tal caso, se agregará en el texto la nota informativa necesaria. Dichos cuadros se presentarán junto con el artículo para su consideración.

Ilustraciones (figuras)

Envíe los juegos completos de figuras en el número requerido por la revista. Las figuras estarán dibujadas y fotografiadas en forma profesional; no se aceptarán los letreros trazados a mano o con máquina de escribir. En lugar de los dibujos, radiografías y otros materiales de ilustración originales, envíe impresiones fotográficas en blanco y negro, bien contrastadas, en papel satinado y que midan 127 x 173 mm, sin exceder de 203 x 254 mm. Las letras, números y símbolos serán claros y uniformes en todas las ilustraciones; tendrán, además, un tamaño suficiente para que sigan siendo legibles incluso después de la reducción necesaria para publicarlos. Los títulos y las explicaciones detalladas se incluirán en los pies o epígrafes, no sobre las propias ilustraciones.

Al reverso de cada figura pegue una etiqueta de papel que lleve anotados el número de la figura, el nombre del autor y cuál es la parte superior de la misma. No escriba directamente sobre el dorso de las figuras ni las sujete con broches para papel, pues quedan marcadas. Las figuras no se doblarán ni se montarán sobre cartón.

Las fotomicrografías incluirán en sí mismas un indicador de la escala. Los símbolos, flechas y letras usados en estas deberán contrastar claramente con el fondo.

Si se usan fotografías de personas, estas no deberán ser identificables; de lo contrario, habrá que anexar un permiso por escrito para poder utilizarlas.

Las figuras se numerarán en forma consecutiva de acuerdo con su primera mención en el texto. Si la figura ya fue publicada, se reconocerá la fuente original y se presentará la autorización por escrito que el titular de los derechos de autor concede para reproducirla. Este permiso es necesario, independientemente de quién sea el autor o la editorial; la única salvedad son los documentos considerados como de dominio público.

Pies o epígrafes de las ilustraciones

Los pies o epígrafes de las ilustraciones se mecanografiarán o imprimirán a doble espacio, comenzando en hoja aparte e identificándolos con los números arábigos correspondientes. Cuando se utilicen símbolos, flechas, números o letras para referirse a ciertas partes de las ilustraciones, será preciso identificar y aclarar el significado de cada uno en el pie o epígrafe. En las fotomicrografías habrá que explicar la escala y especificar el método de tinción.

Unidades de medida

Las medidas de longitud, talla, *peso* y volumen se expresarán en unidades del sistema métrico decimal (metro, kilogramo, litro, etc.) 0 sus múltiples y submúltiplos.

Las temperaturas se consignarán en grados Celsius. Los valores de presión arterial se indicarán en milímetros de mercurio.

Todos los valores hemáticos y de química clínica se presentarán en unidades del sistema métrico decimal y de acuerdo con el Sistema Internacional de Unidades (SI). La redacción de la revista podrá solicitar que, antes de publicar el artículo, los autores agreguen unidades alternativas o distintas de las del SI.

Abreviaturas y símbolos

Utilice únicamente abreviaturas corrientes. Evite las abreviaturas en el título y el resumen. Cuando se emplee por primera vez una abreviatura en el texto, irá precedida del término completo, salvo si se trata de una unidad de medida común.

Envío del manuscrito a la revista

Envíe por correo el número requerido de copias del manuscrito en un sobre de papel resistente; si es necesario, proteja las copias y las figuras metiéndolas entre dos hojas de cartón para evitar que las fotografías se doblen. Meta las fotografías y transparencias en su propio sobre de papel resistente.

Los manuscritos irán acompañados de una carta de envío firmada por todos los coautores.

La Sociedad Latinoamericana de Nutrición
invita a participar en el

3^{er} Premio Latinoamericano Kellogg's® de Investigación en Alimentación y Nutrición Humana



Categorías y Premios:

PROFESIONAL

US \$ 6,000.00

Placa para el primer autor
y diplomas para
los coautores.

ESTUDIANTE

US \$ 3,000.00

Placa para el primer autor
y diplomas para
los coautores.

El premio se entregará durante el XIII Congreso Latinoamericano de Nutrición a celebrarse del 9 al 13 de Noviembre del 2003 en el Centro de Convenciones Acapulco en Acapulco, México.

El jurado está integrado por:

Dr. Adolfo Chávez, Inst. Nal. de Ciencias Médicas y Nutrición "Salvador Zubirán", México.

Dr. Helio Vannucchi, Universidad de Sao Paulo, Brasil.

Dr. Alejandro O'Donnell, Centro de Estudios Sobre Nutrición Infantil, Argentina.

Dr. Ricardo Uauy, Instituto de Nutrición y Tecnología de Alimentos, Chile.

Dr. Fernando Viteri, Universidad de California, Berkeley, EUA.

Para consultar las bases del premio:

www.kelloggs-latino.com



Artes Finales: Amerik Solutions C.A., Caracas, Venezuela
Teléfono (02) 993.81.43

Portada: Chávez & López, Diseño Gráfico, Caracas, Venezuela
Teléfono (02) 285.55.29

Impresión: Editorial Texto C.A., Caracas, Venezuela
Teléfonos: (02) 632.97.17 - 632.74.86