

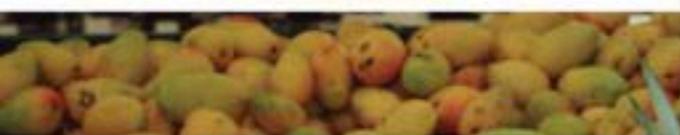
Órgano de Difusión de Investigación Científica, Tecnológica y Humanística

CienciaUAT



VERDAD, BELLEZA, PROBIEDAD

Registro ISSN 2007-7521



Número 1

VOLUMEN

8

JUL-DIC 2013

**SEGUNDA
EDICIÓN
ESPECIAL**

Alimentos, Nutrición y Salud



CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DE QUESOS ÉTNICOS DEL ESTADO DE CHIAPAS

PHYSICOCHEMICAL CHARACTERIZATION OF ETHNIC CHEESES IN THE STATE OF CHIAPAS

Thelma Lucía Rosado-Zarrabal*,
Hipólito Corzo-González,
Sigfrido David Morales-Fernández,
Antonio Magdiel Velázquez-
Méndez, Arnoldo Wong-Villarreal

División Agroalimentaria, Universidad Tecnológica de la Selva. Entronque
Tonina km 0.5, Carretera Ocosingo-Altamirano. Ocosingo,
Chiapas, México, C.P. 29950.

*Autor para correspondencia:
thelrz@utselva.edu.mx.

Fecha de recepción: 30 de marzo de 2013 / Fecha de aceptación: 29 de agosto de 2013.

RESUMEN

En la actualidad, los quesos crema producidos en las Regiones Costa, Selva y Norte del estado de Chiapas, son los de mayor comercialización. Estos quesos no son producidos en grandes escalas y son heterogéneos. Sin embargo, tienen buena aceptación entre los consumidores por sus características sensoriales que presentan. El propósito de este proyecto fue la caracterización de los quesos étnicos de Chiapas mediante análisis fisicoquímicos para verificar que éstos cumplieran con las normas NMX-F-092-1970 y NOM-243-SSA1-2010. Se llevó a cabo una recolección de muestras de queso crema que se elaboran en las diferentes regiones del Estado de Chiapas, se realizaron pruebas fisicoquímicas: pH, humedad, sólidos totales, grasa, proteína y cenizas, y se compararon con las normas.

Los resultados indicaron que, a excepción del pH, los quesos tipo crema

de las regiones Costa, Selva y Norte del Estado de Chiapas se encontraban dentro de las Normas Oficiales Mexicanas, y que la Región Costa fue la que presentó los mayores contenidos de cenizas (4.49 %), sin embargo, en relación a contenidos de grasa, sólidos totales, humedad y proteínas en las tres regiones son iguales, por lo que son quesos con valor nutricional deseable.

PALABRAS CLAVE: queso tipo crema, pH, humedad, grasa, proteína.

ABSTRACT

Nowadays, cream cheeses made in the Costa, Selva and Norte Regions of the State of Chiapas are the best selling cheeses. These cheeses are not produced on a large scale and they are heterogeneous. However, they are well accepted among consumers for their sensory characteristics. The purpose of this project

was to characterize the ethnic cheeses from Chiapas by physicochemical analysis to verify if the characteristics were within the limits of the NMX-F-092-1970 and NOM-243-SSA1-2010 norms. Samples of cream cheese produced in different regions of Chiapas were compiled and analyzed to characterize pH, content moisture, total solids, lipid, protein and ashes content. Then, they were compared with the norms. Results indicated that, except pH, the cream cheese from Costa, Selva and Norte Regions in the State of Chiapas complied with the Mexican Officials Norms, and Costa Region cream cheese was high in ash (4.49 %). However, in relation to fat, solids, moisture and proteins contents, they were equal in the three regions and are therefore cheeses with desirable nutrient value.

KEYWORDS: cream cheese, pH, content moisture, lipids, proteins.

INTRODUCCIÓN

Actualmente, la explotación de la leche es una industria formal y comienza desde la crianza genética y métodos de explotación de las vacas productoras, hasta la distribución de los productos, pasando por diferentes y en algunos casos sofisticados procesos, entre los que sobresale la pasteurización como un proceso esencial para la conservación y la calidad higiénica de los productos (Romero, 2009).

Una de las consideraciones más importantes en la producción de leche y sus derivados es la calidad higiénica, pues debido a su alto contenido en nutrientes es un medio muy viable para la reproducción de microorganismos, entre los que se encuentran los patógenos, por eso, hoy día, las industrias deben implantar rigurosas prácticas y metodologías que eviten contaminaciones microbiológicas y de materiales extraños, que afecten la salud del consumidor y/o la calidad del producto; asimismo, es conveniente que el consumidor desarrolle conocimiento acerca de cómo identificar productos inocuos.

En el 2010, la producción de leche bovina en el estado de Chiapas (Comitán, Motozintla, Palenque, Pichucalco, San Cristóbal de Las Casas, Selva Lacandona, Tapachula, Tonalá, Tuxtla Gutiérrez y Villa Flores) fue de 385,455 L (SIAP, 2010).

En Chiapas, existen 15 regiones socioeconómicas, de las cuales, las regiones Costa, Selva y Norte producen la mayoría de los quesos que se comercializan en el Estado. El queso crema de Chiapas, si bien no es elaborado a gran escala, es un producto distinguido, que junto con el queso bola de Ocosingo (región Selva), representa a la quesería tradicional de Chiapas por su historia, arraigo y consumo; además muestra gran potencialidad comercial y de desarrollo regional.

Actualmente, en el estado de Chiapas se produce cerca de un millón de litros de leche por día, la mayor parte con base en el sistema de lechería extensiva (empleando libre pastoreo); cerca del 70 % de esa producción se canaliza a la elaboración de quesos artesanales. Tan

sólo en la región Costa, principalmente en los municipios de Pijijiapan, Tonalá y Mapastepec, se estima la existencia de unas 200 queserías que elaboran este producto, la mayoría pequeñas y artesanales (Villegas de Gante y col., 2010). En todo el Estado se tiene un registro de 576 queserías artesanales, que procesan alrededor de 2000 L diarios de leche, y la mayoría de ellas fabrica queso crema.

La región de la Costa es la zona que industrializa el mayor volumen de leche en quesos, entre ellos el queso crema. En esta zona, el volumen de leche promedio transformado por quesería en época de sequía es de 6280 L; la Frailesca procesa aproximadamente el 50 % del volumen transformado en la Costa y la Región Norte el 25 % aproximadamente; las pequeñas queserías se dedican a la elaboración del queso crema, en tanto que las grandes diversifican su producción. En cuanto al número de proveedores, en la Costa se ubica el mayor número, con un promedio por empresa de 78.6 %, seguido por la Frailesca y la Norte; en esta última región con 10.7 % (Villegas de Gante y col., 2010).

El queso crema, es un queso de pasta blanda desmineralizada, fresca y prensada, de cuajada mixta (ácido-enzimática), con pH de 4.7 a 5.8, y contenido de sal de 5 a 7 %. Se elabora de forma tradicional, mediante la acidificación de la leche bronca con suero ácido del día anterior.

Posteriormente, 1 mL de cuajo de ternera se agrega por cada 10 L de leche para obtener la cuajada, la cual se deja reposar por un periodo de 24 h. Después, la cuajada se deja escurrir por un día, se sala, se moldea y se prensa durante cuatro horas, y finalmente se empaqueta en papel encerado.

La norma NMX-F-092-1970 rige la calidad de quesos procesados y clasifica los quesos en dos tipos: Tipo I. Quesos procesados para rebanar o cortar; y Tipo II. Quesos procesados para untar con o sin sabores. Se entiende por queso procesado: el producto obtenido de la molienda, mezclado, prensado y emulsificado de los quesos naturales. Todos los quesos procesados deben cumplir con las especificaciones que establece esta norma y se muestran en la Tabla 1.

El queso crema por sus características organolépticas y de proceso está considerado dentro de la norma NOM-243-SSA1-2010, donde define a los quesos frescos, madurados y procesados de la siguiente manera: quesos, productos elaborados con la cuajada de leche estandarizada y pasteurizada de vaca o de otras especies animales, con o sin adición de crema, obtenida por la coagulación de la caseína con cuajo, gérmenes lácticos, enzimas apropiadas, ácidos orgánicos comestibles y con o sin

Tabla 1.

Especificaciones fisicoquímicas de la calidad para queso procesado.

Table 1. Physicochemical parameters of the processed cheese quality.

Especificaciones	Tipo I		Tipo II	
	Mínima	Máxima	Mínima	Máxima
pH	5	6	5	6
Humedad (%)	*	45	*	65
Sólidos totales (%)	55	62	35	40
Grasas (%)	25	*	15	*
Proteínas (%)	10	*	10	*
Cenizas (%)	0.5	*	0.5	*

Fuente: NMX-F-092-1970.

tratamiento ulterior por calentamiento, drenada, prensada o no, con o sin adición de fermentos de maduración, mohos especiales, sales fundentes e ingredientes comestibles opcionales, dando lugar a las diferentes variedades de quesos, pudiendo por su proceso ser fresco, madurado o procesado.

Los consumidores aprecian los quesos artesanos por sus singulares características de sabor y aroma, que es generalmente atribuida a la actividad metabólica de la microbiota autóctona presente en la leche cruda (Ramos, 2009). Sin embargo, se ha detectado que la mayoría de los quesos del estado de Chiapas presentan heterogeneidad en sus características fisicoquímicas, a pesar de ser producidos en la misma zona, esto puede ser consecuencia de que sus procesos de elaboración no se encuentren estandarizados.

Este trabajo pretende contribuir en la tipificación del queso crema que se produce en la región del estado de Chiapas, para conservar sus características típicas a lo largo de los años y tener homogeneidad en sus productos, por lo que a través del estudio de sus propiedades fisicoquímicas, se hizo la evaluación de

calidad y verificación de parámetros de cumplimiento de las normas alimentarias NMX-F-092-1970 y NOM-243-SSA1-2010.

MATERIALES Y MÉTODOS

Las muestras de queso crema (Figura 1), fueron recolectadas de los municipios de Pijijiapan - Tonalá, Solosuchiapa - Rayón, y Ocosingo, Chiapas, México, que corresponden a las Regiones Costa, Norte y Selva, respectivamente; durante el periodo de enero-abril de 2012. Se seleccionaron cinco queserías de cada región al azar, y las muestras tuvieron un peso de 500 g. Estas fueron envasadas en bolsas de plástico cerradas herméticamente y se transportaron en una hielera hacia el laboratorio. Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) para determinar si existían diferencias significativas entre las queserías muestreadas, considerando cada región como un tratamiento. Los análisis de las variables fisicoquímicas de las muestras se realizaron por triplicado. Los datos obtenidos fueron analizados bajo el diseño completamente al azar y comparación múltiple de medias con la prueba LSD (Steel y Torrie, 1988), mediante el paquete estadístico SAS versión 8.0 (SAS Institute, 2004).

Análisis de humedad y cenizas

La humedad de las muestras de quesos se determinó por el método de pérdida de peso por ignición, mientras que la de cenizas fue por incineración directa (Kirk y col., 2002). Para la determinación de éstas variables se tomó con referencia las Normas Mexicanas NMX-F-066-S-1978 y NMX-F-094-1984. La humedad fue determinada en 3 g de muestra en una estufa de secado a 105 °C por 24 h. Posteriormente, se incineró la muestra a una temperatura de 550 °C para la determinación del contenido de cenizas.

Proteínas

La determinación de proteínas fue mediante el método de Kjeldahl (Matissek y col., 1998). Para el análisis de proteína en los quesos se utilizó 1 g de muestra. El contenido de proteína cruda se obtuvo considerando el promedio de nitrógeno presente en la muestra, y se consideró como referencia la norma NMX-F-098-1976.

Potencial de hidrógeno (pH)

Las determinaciones de pH en los quesos se realizaron con un electrodo de superficie (Hanna instruments), calibrando con solución tampón pH 7.0 y 4.0 (J.T. Baker, México), en 1 g de muestra y de acuerdo con la norma NMX-F-099-1970.

Grasas

La determinación de grasas se realizó por el método de Gerber (Matissek y col., 1998), en 1 g \pm 0.001 g de muestra (Figura 2) y de acuerdo con la norma NMX-F-100-1984.

Sólidos totales

La determinación de sólidos totales fue por el método de pérdida de peso (Kirk y col., 2002) en 3 g de muestra, y de acuerdo con la norma NMX-F-111-1984.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos de este estudio, mostraron que en relación al pH, ninguna de las tres regiones evaluadas cumple con el intervalo de 5-6, establecida en la norma NMX-F-092-1970 para quesos tipo I y II, como se muestra en la Tabla 1. Sin embargo, es importante destacar que hay reportes de quesos mexicanos que el pH puede oscilar

Figura 1.

Muestras de quesos colectadas en las diferentes regiones del estado de Chiapas.
Figure 1. Cheeses samples collected in different regions of the state of Chiapas.



entre 3.8 y 4.5 (Villegas y Aparicio, 2012), debido a la acidificación de la cuajada durante el proceso de elaboración, y a la maduración, aún después de elaborado el producto.

No se detectaron diferencias significativas entre las regiones estudiadas (Tabla 2), observándose que la Región Selva, Costa y Norte destacaron por tener pH bajos. Esto puede ser debido a la calidad nutricional de la leche, y la acidificación de la leche en la elaboración de los quesos mexicanos.

El contenido de grasas en las regiones Costa y Norte fue bajo en comparación con la región Selva (Tabla 2). Sin embargo, estadísticamente las tres regiones son iguales; lo que permite que estos quesos sean considerados como semigrasos y/o semidescremados dentro de la clasificación del CODEX STAN 283-1978. Estos resultados concuerdan con los reportados por Romero-Castillo y col. (2009), quienes indican que el contenido de grasa bajo en algunos quesos se puede atribuir a la diferencia en la forma de elaboración, ya que los productores no estandarizan el contenido graso de su materia prima.

En sólidos totales y humedad, las tres

regiones evaluadas se encontraron dentro de la norma NMX-F-092-1970 (Tabla 1). A pesar de que el contenido de humedad fue inferior en las tres regiones a lo reportado por Romero-Castillo y col. (2009) y Parra y Fonseca (2012), estos quesos pueden ser nutricionalmente aceptados por

su contenido de proteínas, grasas y carbohidratos, además que el contenido de humedad bajo coadyuva a tener una vida de anaquel mayor.

El contenido de cenizas también se encontró dentro de la norma establecida (Tabla 1), sin embargo, se observó que

Figura 2.

Butirómetro para la determinación de grasas.

Figure 2. Butyrometer to fat determination.



Tabla 2.

Comparación de los parámetros fisicoquímicos del queso crema de las regiones Costa, Norte y Selva del estado de Chiapas.

Table 2. Comparison of physicochemical parameters of cream cheese in the Costa, Norte and Selva regions of Chiapas.

Regiones	pH	Grasas (%)	Sólidos Totales (%)	Humedad ¹ (%)	Cenizas (%)	Proteínas (%)
Costa	4.04 ± 0.31 ^a	20.0 ± 8.72 ^b	51.05 ± 6.43 ^a	48.96 ± 6.42 ^a	4.49 ± 1.22 ^a	19.70 ± 2.69 ^{ab}
Selva	3.75 ± 0.32 ^a	33.68 ± 7.74 ^{ab}	59.23 ± 6.46 ^a	39.88 ± 7.56 ^a	2.45 ± 0.66 ^b	19.52 ± 1.52 ^a
Norte	3.94 ± 0.18 ^a	22.92 ± 2.68 ^b	47.81 ± 14.13 ^a	52.34 ± 14.12 ^a	2.67 ± 0.60 ^b	16.43 ± 0.89 ^b
C.V. (%)	7.10	27.42	18.98	21.29	27.35	10.19

¹ Datos reportados en base húmeda. Valor promedio de tres análisis y su desviación estándar; C.V. = Coeficiente de variabilidad.

Tratamientos con misma letra dentro de columna indican que no hay diferencia estadística de acuerdo a la prueba de la LSD (P ≤ 0.05).

en la Región Costa se obtuvieron los mayores porcentajes respecto a las otras dos regiones (Tabla 2), resultados que concuerdan con lo reportado por Romero-Castillo y col. (2009), lo que puede ser debido principalmente a factores como el origen y calidad de la leche, y tipo de alimentación del ganado.

El contenido de proteínas en los quesos evaluados no fue diferente estadísticamente en las tres regiones estudiadas (Tabla 2). Estos resultados indican que a pesar de que se encuentran por debajo de lo reportado por Romero-Castillo y col. (2009) y Parra y Fonseca (2012) están dentro de la norma NMX-F-092-1970 (Tabla 1), ya que el mínimo aceptable es del 10 %. Estas diferencias del contenido proteico podrían deberse a la calidad de la leche y a la heterogeneidad del proceso, ya que una mala aplicación o no control de variables de temperatura, pH y tiempo, suele provocar diferencias en la precipitación de las proteínas.

CONCLUSIONES

Con excepción del pH, los quesos tipo crema de las regiones Costa, Selva y Norte del Estado de Chiapas se encuentran dentro de las normas NMX-F-092-1970 y NOM-243-SSA1-2010. La Región Costa fue la que presentó mayor contenido de cenizas, lo que indica que la composición de la leche es diferente en las tres regiones, y esa diferencia se debe a factores como la calidad de la materia prima y tipo de alimentación del ganado, y no al proceso de elaboración de los quesos.

Con este estudio se demostró que hay evidencia estadística de que los contenidos de grasa, sólidos totales y proteínas, no son diferentes en las regiones Costa, Selva y Norte, y que se encuentran dentro de las normas mexicanas oficiales, lo que puede ser un indicativo de que el estado de Chiapas es una zona potencial para la elaboración de quesos con valor nutrimental deseable. ■

REFERENCIAS

- CODEX STAN 283-1978 (2006). Norma General del Codex para el queso. [En línea]. Disponible en: http://www.codexalimentarius.org/input/download/standards/.../CXS_283s.pdf. Fecha de consulta: 14 de enero de 2012.
- Kirk, S. R., Sawyer, R. y Egan, H. (2002). *Composición y análisis de alimentos*. México: CECSA, 662 Pp.
- Matissek, R., Schnepel, F. M. y Steiner, G. (1998). *Análisis de los alimentos. Fundamentos, métodos, aplicaciones*. España: Acribia, 416 Pp.
- NMX-F-092-1970 (1970). Calidad para quesos procesados. Normas Mexicanas. Dirección General de Normas. [En línea]. Disponible en: www.colpos.mx/bancodenormas/nmexicanas/NMX-F-092-1970.PDF. Fecha de consulta: 16 de enero de 2012.
- NMX-F-099-1970 (1970). Método de prueba para la determinación de pH en quesos procesados. Normas Mexicanas. Dirección General de Normas. [En línea]. Disponible en: <http://www.colpos.mx/bancodenormas/nmexicanas/NMX-F-099-1970.PDF>. Fecha de consulta: 14 de enero de 2012.
- NMX-F-098-1976 (1976). Determinación de proteínas en quesos. Method of test for protein in cheese. Normas Mexicanas. Dirección General de Normas. [En línea]. Disponible en: <http://www.colpos.mx/bancodenormas/nmexicanas/NMXF-098-1976.PDF>. Fecha de consulta: 16 de enero de 2012.
- NMX-F-066-S-1978 (1978). Determinación de cenizas en alimentos. Foodstuff determination of ashes. Normas Mexicanas. Dirección General de Normas. [En línea]. Disponible en: <http://www.colpos.mx/bancodenormas/nmexicanas/NMX-F-066-S-1978.PDF>. Fecha de consulta: 18 de enero de 2012.
- NMX-F-094-1984 (1984). Alimentos Lácteos. Determinación de cenizas en quesos. Foods lacteous. Cheese ashes determination. Normas Mexicanas. Dirección General de Normas. [En línea]. Disponible en: <http://www.colpos.mx/bancodenormas/nmexicanas/NMX-F-094-1984.PDF>. Fecha de consulta: 17 de enero de 2012.
- NMX-F-100-1984 (1984). Alimentos Lácteos. Determinación de grasa butírica en quesos. Foods lacteous. Cheese butter fat determination. Normas Mexicanas. Dirección General de Normas. [En línea]. Disponible en: <http://www.colpos.mx/bancodenormas/nmexicanas/NMX-F-100-1984.PDF>. Fecha de consulta: 17 de enero de 2012.
- NMX-F-111-1984 (1984). Alimentos Lácteos. Determinación de sólidos totales en quesos. Foods Lacteous. Cheese total solids determination. Normas Mexicanas. Dirección General de Normas. [En línea]. Disponible en: <http://www.colpos.mx/bancodenormas/nmexicanas/NMX-F-111-1984.PDF>. Fecha de consulta: 15 de enero de 2012.
- NOM-243-SSA1-2010 (2010). Norma Oficial Mexicana. Productos y servicios. Leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado y derivados lácteos. Disposiciones y especificaciones sanitarias. Métodos de prueba. [En línea]. Disponible en: http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5160755&fecha=27/09/2010. Fecha de consulta: 17 de enero de 2012.
- Parra, H. R. A. y Fonseca, S. E. G. (2012). Características fisicoquímica, proximal y sensorial de un queso tipo crema saborizado. *Vitae*, 19: 216-218.
- Ramos-Izquierdo, B., Bucio-Galindo, A., Bautista-Muñoz, C., Aranda-Ibáñez, E. e Izquierdo-Reyes, F. (2009). Aislamiento, identificación y caracterización de bacterias ácido lácticas para la elaboración de queso crema tropical. *Universidad y Ciencia del Tropicó Húmedo*, 25: 159-171.
- Romero-Castillo, P. A., Leyva, G., Cruz-Castillo, J. G. y Santos-Moreno, A. (2009). Evaluación de la calidad sanitaria de quesos crema tropical mexicano de la región de Tonalá, Chiapas. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 8(1): 111-119.
- SAS (V8, 2004, SAS Inst., Inc., Cary, NC, USA). SIAP (2010). Producción de leche bovina en el estado de Chiapas. [En línea]. Disponible en: http://www.siap.gob.mx/anuario_siap/ganadootrosmpio.do. Fecha de consulta: 12 de febrero de 2012.
- Steel, R. G. y Torrie, J. H. (1988). *Bioestadística. Principios y procedimientos*. México: McGraw-Hill, 622 Pp.
- Villegas-de-Gante, A. Z., Hernández-Montes, A., Calvo-Arriaga, A. O. y León-Velasco, H. (2010). El Queso Crema de Chiapas: exploración de su aceptabilidad rumbo a la obtención de una marca colectiva. *Claridades Agropecuarias*, 203: 33-39 Pp.
- Villegas-de-Gante, A. Z. y Aparicio-Márquez, S. (2012). Inocuidad del queso crema de Chiapas: un queso artesanal distinguido. *Industria Alimentaria*, 4(1): 54-59 Pp.

INFECCIONES EN PIE DIABÉTICO: CONCEPTOS Y CONSENSOS GENERALES

DIABETIC FOOT INFECTIONS:
CONCEPTS AND GENERAL CONSENSUS

Wendy Lizeth Cruz-Pulido¹,
Eduardo Bladíneres-Cámara²,
Rodrigo Alcalá-Durán²,
Gildardo Rivera-Sánchez³,
Miguel Ángel Reyes-López¹
Virgilio Bocanegra-García^{1*}

¹Laboratorio de Medicina de Conservación,
Centro de Biotecnología Genómica,
Instituto Politécnico Nacional.

²Angiología y Cirugía Vasculardel Noreste,
S. C. Aguascalientes No. 290 Esq con
Veracruz, colonia Rodríguez, Cd.
Reynosa, Tamaulipas, México.

³Laboratorio de Biotecnología Ambiental,
Centro de Biotecnología Genómica,
Instituto Politécnico Nacional,
Blvd. del Maestro esq. Elías Piña, col. Narciso
Mendoza, Reynosa, Tamaulipas, México.

*Autor para correspondencia:
vbocanegra@ipn.mx,
vbocanegra@yahoo.com

Fecha de recepción: 14 de enero de 2013.
Fecha de aceptación: 29 de mayo de 2013.

RESUMEN

La Diabetes Mellitus (DM) tipo 2 es una enfermedad grave y una causa mayor de morbilidad y mortalidad. Es, además, la principal causa de enfermedad renal terminal, amputaciones de las extremidades inferiores no debidas a traumatismo y ceguera en adultos. El pie diabético comprende una combinación de ulceración, infección y gangrena en diferentes grados. Es una de las complicaciones más incapacitantes de la DM tipo 2. Las infecciones en pacientes con pie diabético son frecuentes, complejas de tratar, costosas, y comúnmente llevan a la amputación. La microbiota, presente en la infección en pie diabético, suele ser muy diversa. En infecciones iniciales predominan las bacterias aerobias Gram positivas como *S. aureus*, incluyendo *S. aureus* meticilina resistentes (MRSA) y estreptococos beta hemolíticos, incluyendo los grupos A, B, C, y G. En las heridas crónicas se encuentran infecciones principalmente poli-microbianas, donde pueden estar presentes bacterias Gram positivas y Gram negativas aerobias y anaerobias. Debido a que no existen protocolos estandarizados para tratar infecciones en pie diabético, el tratamiento y seguimiento están basados en la opinión de expertos y consensos. En este artículo se revisan los conceptos y consensos actuales.

PALABRAS CLAVE:

Diabetes, pie diabético, infecciones.

ABSTRACT

Type 2 diabetes is a serious illness and a major cause of morbidity mortality. It is the main cause for terminal renal failure, amputations of lower limbs and blindness in adults. Diabetic foot includes a combination of ulcer, infection and gangrene in different levels. It is one of the most incapacitating complications of diabetes. Infections in patients with diabetic foot are common, complex deal with, expensive, and it commonly leads to amputation. The microbiota of infections in diabetic foot is generally complex. In first time infections Gram positive aerobic bacteria such as *S. aureus*, including *S. aureus* meticillin resistant (MRSA) and beta hemolytic streptococci including groups B, C, and G predominate. Chronic wounds in diabetic food are caused by several different groups of bacteria, including Gram positive, Gram negative aerobic bacteria, as well as anaerobes. At present there are no standardized protocols for treatment of diabetic foot infections. Current treatments are based on expert opinion and consensus. This paper reviews current concepts and consensus.

KEYWORDS:

Diabetes, diabetic foot, infections.

INTRODUCCIÓN

La DM comprende un grupo de desórdenes metabólicos que comparten el fenotipo de hiper-glicemia (Anthony y col., 2008) y se genera cuando no se produce suficiente insulina o el organismo no puede utilizar eficientemente la insulina que produce. La DM tiene dos manifestaciones principales, la DM tipo 1 que es debida a una producción insuficiente de la insulina y la DM tipo 2, que es debida a una disminución del efecto de la insulina en el control de la glicemia. La DM tipo 2 es una enfermedad grave y una causa mayor de morbilidad y mortalidad (Al-Benwan y col., 2012; Shaw y col., 2010). Debido a que la esperanza de vida de los pacientes con DM tipo 2 ha mejorado, el riesgo de desarrollar complicaciones crónicas ha aumentado (Korzon y Dziemidok, 2011). El número de personas con DM tipo 2 a nivel mundial se considera que incrementará de 171 millones en 2000 a 366 millones en 2030 (Wild y col., 2004). En países en vías de desarrollo, se espera un incremento desde 84 millones a 228 millones en el mismo periodo (Haslam y James, 2005).

La DM tipo 2 es la principal causa de enfermedad renal terminal, amputaciones de las extremidades inferiores no debidas a traumatismo y ceguera en adultos. Las complicaciones crónicas pueden dividirse en vasculares, que a su vez se subdividen en micro-vasculares (retinopatía, neuropatía y nefropatía) y macro-vasculares (enfermedad coronaria arterial, enfermedad periférica arterial y enfermedad cerebro-vascular). Las complicaciones no vasculares incluyen problemas como la gastroparesis, infecciones y cambios en la piel. La DM tipo 2 frecuentemente tiene un periodo asintomático largo con hiper-glicemia, y muchos individuos con DM tipo 2 ya presentan complicaciones al momento del diagnóstico (Anthony y col., 2008). El pie diabético con presencia de ulceración, infección y gangrena, es una de las complicaciones más incapacitantes de la DM tipo 2 (Korzon y Dziemidok, 2011). En el artículo se hace una revisión de conceptos y consensos actuales del pie diabético referente a su tratamiento y seguimiento, los cuales están basados en

la opinión de expertos y consensos, debido a que no existen protocolos estandarizados para tratar infecciones en pie diabético.

Pie diabético

De acuerdo a la Organización Mundial de la Salud (OMS), el pie diabético (PD) se define como: "El pie de un paciente que tiene el riesgo potencial de consecuencias patológicas, incluyendo infección, ulceración, y/o destrucción de tejidos profundos asociados a anomalías neurológicas, varios niveles de enfermedad vascular y/o complicaciones metabólicas de la diabetes en las extremidades inferiores" (Chand y col., 2012).

El PD es la principal causa de hospitalización y de la amputación de miembros inferiores en diabéticos (Lipsky, 2004; Jeffcoate y col., 2008). El pronóstico de un PD infectado es generalmente malo y la esperanza de vida disminuye considerablemente en pacientes amputados (Richard y col., 2011).

La prevalencia de las úlceras en PD abarcan del 4 al 10 % de personas con DM, y el riesgo de desarrollar ulceración a lo largo de la vida es de 25 % (Singh y col., 2005). Las úlceras, preceden al 85 % de todas las amputaciones de extremidades inferiores relacionadas con DM. La infección en pie diabético (IPD) es una complicación frecuente, que se estima se presenta en aproximadamente el 15 % de los pacientes con DM que eventualmente progresan a osteomielitis (Mancini y Routolo, 1997). La IPD es una complicación común, compleja de tratar y costosa, y es común que termine en amputaciones (Jeffcoate y Harding, 2003; Lipsky, 2004). Se calcula que a nivel mundial, una amputación de pie debido a la DM se lleva a cabo cada 20 segundos (Castro y col., 2009; Jeffcoate y Bakker, 2005).

Patogénesis del pie diabético

El PD se desarrolla por una combinación de neuropatía, isquemia, inmunosupresión y ulceración que desemboca en miembros inferiores muy susceptibles a que pequeñas heridas progresen a úlceras grandes y profundas con infecciones graves, que comprometen el miembro inferior e incluso la vida del paciente si no se tratan adecuadamente.

Las neuropatías, son la complicación más común de largo plazo de la DM y afecta hasta un 50 % de los pacientes. La neuropatía

es el problema clave en la patogénesis en la DM porque afecta tanto las fibras nerviosas motoras, sensoriales y las de nervios autónomos (Korzon y Dziemidok, 2011). La disfunción de las fibras nerviosas motoras provoca deformidad del pie, alteraciones del soporte del peso y formación de callos. La falta de la sensación protectora del dolor en el pie debido a la neuropatía sensorial no permite sentir molestias en un área del pie, causando ulceraciones debido a trauma o a presión excesiva en pies deformados, y retrasar la atención a una infección o ulceración, dando más tiempo para progresión hasta úlceras profundas con el consecuente incremento en el riesgo de amputación (Korzon y Dziemidok, 2011; Richard y col., 2011).

La isquemia se debe a la enfermedad vascular periférica de los miembros inferiores, y es otro factor que contribuye a la patogénesis de los problemas de PD. Esto disminuye la capacidad de sanar, e incrementa el riesgo de amputación. Esta complicación está presente en un 50 % de los pacientes diabéticos (Prompers y col., 2008; Korzon y Dziemidok, 2011). La combinación de un flujo no adecuado y la ausencia de síntomas de alerta causados por la neuropatía, aceleran el desarrollo de una infección seria (Roberts y Simon, 2012).

La inmunosupresión se presenta porque la inmunidad celular está disminuida, especialmente en pacientes con altas concentraciones de glucosa. La adherencia y la quimiotaxis de los neutrófilos y macrófagos están disminuidas, de modo que la migración de las células a los sitios de infección se reduce y la curación es menos efectiva (Mendes y col., 2012). La capacidad inmunológica disminuida del hospedero en conjunto con tejidos blandos necróticos y huesos infectados, puede permitir que incluso organismos de baja virulencia tales como los estafilococos coagulasa negativos o *Corynebacterium* se vuelvan patógenos (Lipsky, 2004).

La formación de una úlcera, es un momento crítico para un paciente con DM y el primer paso en la ruta de infección y posterior amputación. Las úlceras aparecen con mayor frecuencia en la planta del pie. Debido a la neuropatía, las úlceras generalmente son indoloras, aunque en pacientes con isquemia, se presenta dolor a pesar de

la neuropatía. Las úlceras de PD tienen una incidencia de 25 % en el tiempo de vida de un diabético (Singh y col., 2005), y frecuentemente se infectan y son costosas de tratar (Prompers y col., 2008). La infección puede esparcirse hacia tejido blanco y hueso, y es el principal factor causal de amputaciones de miembros inferiores (Richard y col., 2011).

Aproximadamente 56 % de las úlceras de PD se infectan. Los signos clínicos de infección involucran celulitis, edema, incremento en la temperatura local, olor desagradable y formación de abscesos. Las úlceras de corta duración generalmente están infectadas por microorganismos Gram positivos, y los cultivos de úlceras de largo plazo por una combinación de Gram positivos, Gram negativos y anaerobios (Korzon y Dziemidok, 2011).

Clasificaciones de severidad del PD

La clasificación de la severidad del problema del PD estaba basada inicialmente en el modelo de Wagner (Van Acker y col., 2002) que incluye 4 grados dependiendo del tamaño y la profundidad de la herida, pero considera las infecciones solo a partir del grado 3.

Otro sistema más reciente, es el propuesto por *Diabetes Foot Group* de la Universidad de Texas, y es una derivación del esquema de Wagner, pero incluye a la infección como un modificador de co-morbilidad, aunque no especifica la severidad de la infección. El International Working Group on the Diabetic Foot (IWGDF) y la Infectious Diseases Society of America (IDSA), han propuesto por separado una clasificación relativamente intercambiable, donde la presencia de infección en la herida es definida clínicamente, y no por la positividad en un cultivo. La clasificación de la IWGDF tiene 4 categorías, que van desde no infectado, hasta infección severa y la diferenciación se basa en signos y síntomas clínicos. En la IDSA el grado 1 son heridas que no tienen purulencia o manifestación de inflamación, el grado 2 tiene dos o más manifestaciones de inflamación, y no hay evidencia de celulitis a más de 2 cm alrededor del sitio de la úlcera y el paciente no tiene ningún síntoma sistémico. En el grado 3, la celulitis se extiende más allá de 2 cm del sitio de la úlcera, o está por debajo de la fascia, así como abscesos profundos y gangrena. El grado 4 o severo, está acompañado de

toxicidad sistémica o inestabilidad metabólica, tal como fiebre, hipotensión, taquicardia, confusión, leucocitosis, acidosis, hiperglicemia y azotemia (Roberts y Simon, 2012).

Infección del pie diabético Microbiología de la IPD

Los pacientes con DM tipo 2 frecuentemente requieren amputaciones menores o mayores de los miembros inferiores (15-27 %) y en más de 50 % de los casos la infección es un factor determinante (Boulton y col., 2005; Richard y col., 2011). Esas infecciones continúan siendo un riesgo mayor para las amputaciones de extremidades inferiores (Joseph y Lipsky, 2010). Un reporte reciente estima que el riesgo de hospitalización y amputación de una extremidad inferior es entre 56 y 155 veces mayor en personas diabéticas con IPD que en aquellas que no son diabéticas (Lavery y col., 2006).

Existe controversia sobre las generalizaciones que habían sido aceptadas sobre las infecciones en PD, a partir de hallazgos desde 1990 (Joseph y Lipsky, 2010). La IPD se define como la presencia de al menos dos manifestaciones inflamatorias (purulencia o eritema, dolor, hinchazón, temperatura o induración) y se divide en tres grados de severidad, desde una forma moderada de infección (grado 2) a severa (grado 4), de acuerdo a la extensión del tejido involucrado y la presencia de toxicidad sistémica o descontrol metabólico (Lipsky, 2004).

La microbiología de la IPD es frecuentemente compleja y poli-microbiana. Debe siempre considerarse el uso previo de antibióticos, si la infección es aguda o crónica o si es superficial o profunda (Powlson y Coll, 2010). Es importante diferenciar infección de colonización, establecer un régimen adecuado de antibióticos y determinar el tiempo en que estos se van a administrar (Richard y col., 2011). La Figura 1 ilustra el procedimiento usado en el laboratorio para establecer la resistencia de los microorganismos asociados a la infección y diferentes antibióticos (antibiograma).

La infección puede ser causada por microorganismos aerobios Gram positivos, Gram negativos y anaerobios (Korzon y Dziemidok, 2011). Se ha demostrado que la mayoría de las infecciones leves o iniciales son mono-microbianas y causadas por

Figura 1.

El desarrollo de resistencia a antibióticos es frecuente en agentes causales del pie diabético.

Figure 1. Development of antibiotic resistance is frequent in causal agents of diabetic foot infections.



Tomado de: http://en.wikipedia.org/wiki/File:Antibiotic_sensitivity_and_resistance.JPG

cocos Gram positivos como *Staphylococcus aureus* (Figura 2) y *Streptococcus* spp. Las infecciones severas son generalmente de largo plazo y polimicrobianas, y causadas por cocos y bacilos aerobios Gram negativos (como *Pseudomonas* spp., *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., y *Proteus* spp., así como por anaerobios (Frykberg, 2003; Joseph y Lipsky, 2010; Mendes y col., 2012). La terapia previa con antibióticos también condiciona el tipo de microorganismo que se puede aislar. Pacientes sin tratamientos previos, generalmente presentan infección por Gram positivos aerobios, mientras que en pacientes previamente tratados, los Gram negativos prevalecen y generalmente con resistencia a antibióticos, lo cual requiere terapias de amplio espectro y de mayor tiempo (Miller y Henry, 2009).

En vista del incremento de la fármaco-resistencia ha surgido la necesidad de identificar el agente causal antes de iniciar la terapia con antibiótico (Joseph y Lipsky, 2010). Como esto puede retrasar críticamente el inicio del tratamiento, se ha llegado a un consenso intermedio donde se recomienda iniciar una terapia de amplio espectro y cuando el resultado microbiológico esté disponible, reducir el espectro antibiótico solo para atacar al agente etiológico. Con esto, el análisis microbiológico provee información útil para optimizar el tratamiento, mejorar la evolución, evitar o disminuir el tiempo de hospitalización y las amputaciones, limitar los posibles efectos secundarios y la selección de bacterias resistentes a antibióticos (Tascini y col., 2011).

Debido a que los signos clínicos pueden estar reducidos, el retardo en el inicio del tratamiento puede llevar a la progresión de la infección desde una forma limitada a una severa, que ponga en riesgo a la extremidad. La progresión por lo general es rápida, debido a la isquemia asociada, a la inmunopatía diabética y a las características anatómicas particulares del pie (Richard y col., 2011). Los expertos en el campo, desaconsejan el uso de antibióticos en úlceras clínicamente no infectadas (Jeffcoate y col., 2008; Richard y col., 2011).

Respecto a los microorganismos responsables de la infección, los cocos Gram positivos aerobios son los más comunes que colonizan la piel y son frecuentemente aislados de infecciones agudas, como resultado de esoriaciones en la piel (Roberts y Simon, 2012).

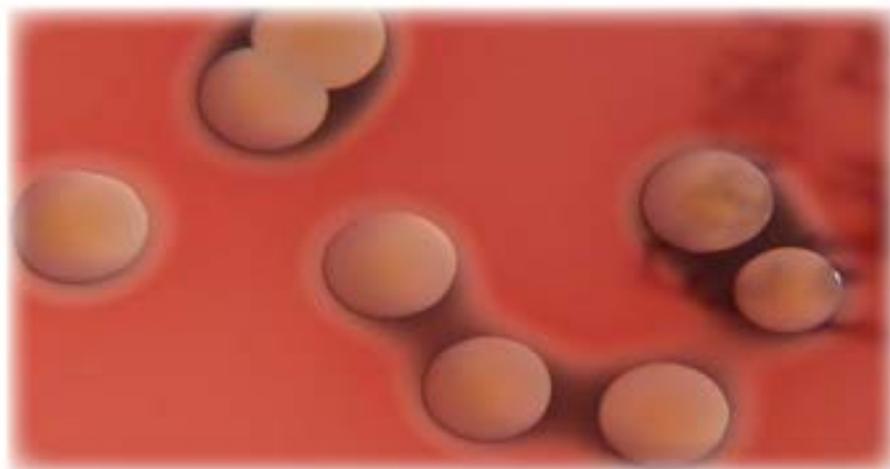
S. aureus, incluyendo *Staphylococcus aureus* meticilina resistentes (MRSA) y estreptococos beta hemolíticos, incluyendo los grupos A, B, C, y G, son los patógenos comúnmente aislados (Abdulrazak y col., 2005) en la mayoría de las IPD. Por la cual, la terapia con antibióticos inicial puede enfocarse solo a los cocos Gram positivos (Joseph y Lipsky, 2010). Una gran variedad de bacilos aerobios Gram negativos pueden ser aislados de infecciones crónicas de PD. Estas incluyen Enterobacteriaceae, tales como *Escherichia coli*, *Proteus* y *Klebsiella*, así como *Pseudomonas* y otros bacilos Gram negativos no fermentadores (Roberts y Simon, 2012). Los anaerobios generalmente son un problema tanto para su correcto muestreo y

tras para cultivo de hongos y sensibilidad a fármacos (Cehllan y col., 2010). Las micosis de los pies, aunque no sean el agente infeccioso en sí, pueden ser sitios potenciales de entrada para infecciones bacterianas. La onicomicosis severa es un factor de riesgo grave para la úlcera de PD (Boyko y col., 2006) y particularmente problemático en presencia de poli-neuropatía, ya que las erosiones por presión de la base de la uña pueden incrementar el riesgo de infecciones bacterianas subsecuentemente incluyendo el hueso (Eckhard y col., 2007).

Las infecciones en heridas crónicas de PD generalmente son poli-microbianas y una mezcla de bacterias aerobias y anaerobias puede estar presente (Lipsky y col., 2009). Los

Figura 2.

Staphylococcus aureus es el principal agente causal de infecciones en pie diabético. Figure 2. *Staphylococcus aureus* is the main causal agent in diabetic foot infections.



Tomado de http://en.wikipedia.org/wiki/File:Staphylococcus_aureus_colonies_on_blood_agar.jpg

su cultivo y quedan sub-representados a menos que se tomen medidas extraordinarias de manejo, preservación y procesamiento de las muestras (Al-Berwan y col., 2012; Tascini y col., 2011). Los anaerobios tales como *Peptococcus* y *Peptostreptococcus*, junto con *Clostridia*, *Fusobacterium* y ocasionalmente *Bacteroides*, son frecuentemente encontrados en pies "fétidos" con isquemia y gangrena (Miller y Henry, 2009). Entre los hongos, *Candida* se reporta con más frecuencia (Tascini y col., 2011). La inmunosupresión condiciona para la infección por hongos, pero en pacientes diabéticos no ha sido estudiada a detalle. En las heridas de solo IPD se sospecha de bacterias, pero no se analizan rutinariamente las mues-

diferentes hallazgos en los análisis microbiológicos de IPD pueden deberse a la severidad de la infección, a las variaciones geográficas, al uso de antibióticos y al tipo de país (Citron y col., 2007). En muchos estudios se indica el aislamiento de múltiples microorganismos, por lo que la presencia de múltiples especies puede tener implicaciones clínicas importantes, por ejemplo especies que producen biofilms en este ambiente pueden ayudar a otros patógenos impidiendo la penetración de los agentes antimicrobianos al sitio infectado. Cuando se hace una biopsia, se destruye el equilibrio o posible equilibrio de las poblaciones microbianas presentes en la infección y solo se considera el posible efecto de cada

agente infeccioso en forma aislada (Abdulrazak y col, 2005; Ramakant y col, 2011).

El tipo de organismo y sus características de virulencia son importantes para establecer una infección. Algunos expertos argumentan que la identidad del patógeno en específico es más importante que la densidad del microorganismo. Bacterias con virulencia reconocida, como *S. aureus*, *Streptococcus* beta hemolíticos, enterobacterias y anaerobios deben ser implicados a IPD. Bacterias de baja virulencia como flora comensal tales como *Staphylococcus coagulasa* negativos, *Corynebacterium* spp and *Propionibacterium* spp, así como *Enterococcus* spp, *Stenotrophomonas maltophilia* y *Pseudomas*, también pueden ser patógenos, especialmente si son aisladas en repetidas ocasiones de heridas que no sanan (Richard y col, 2011).

Una complicación adicional en las IPD es la osteomielitis que generalmente es el resultado de una dispersión a partir de un foco de tejido blando, por lo que el espectro microbiológico es similar, predominando *S. aureus*. Para la osteomielitis, se requiere una biopsia de hueso obtenida quirúrgicamente. La investigación radiológica es un componente crítico para la evaluación de la infección en este caso. Por lo cual debe eliminarse quirúrgicamente la porción de hueso afectada (Roberts y Simon, 2012; Korzon y Dziemidok, 2011).

Análisis microbiológico en IPD

El objetivo del muestreo y cultivo a partir de muestras de PD es identificar al microorganismo responsable de la infección, y no para diagnosticar la infección por sí misma (Richard y col, 2011). El consenso para tomar una muestra se basa en que la IPD debe haber sido diagnosticada con base a signos y síntomas clínicos, y confirmada y clasificada por un experto, y la muestra solo debe tomarse si la confirmación clínica indica infección grado 2-4 de acuerdo al International Consensus Grading System (ICGS) (Lipsky, 2004). Antes de tomar la muestra, la herida debe haber sido debridada quirúrgicamente para eliminar las bacterias colonizantes y la carga bacteriana, dando lugar a una mejor posibilidad de cultivar solo el organismo causante de la infección y evitar los organismos colonizantes. Aún no existe un consenso sobre el tipo de muestra ideal y al momento existen informes de muestras tomadas mediante aspirados, raspados,

Figura 3.

Paciente en recuperación de una infección de pie diabético.
Figure 3. Patient in recovery from a diabetic foot infection.



hisopo y biopsia, todo esto dependiendo del criterio del médico tratante y la afectación que pueda causar el muestreo de acuerdo a las condiciones de la herida y del paciente (Richard y col, 2011). Para infecciones complicadas a osteomielitis, el método de elección de muestreo es la obtención de una biopsia de hueso quirúrgicamente. La investigación radiológica es un componente crítico para la evaluación de la infección en este caso (Jeffcoate y col, 2008; Lipsky, 2004).

Tratamiento de la IPD

El tratamiento en las IPD es complejo y relativamente largo (desde 2 hasta 10 semanas) (Figura 3) y a la fecha no existen guías oficiales o estandarizadas de abordaje; todo depende de la experiencia del médico tratante y de los consensos que se han logrado en las reuniones científicas para tratar el tema. Las opciones de tratamiento van desde el control metabólico del paciente, pasando por la terapia con antibióticos y terapias adicionales como oxígeno hiperbárico, con utilización de cirugía lo más conservadora posible, hasta llegar a la amputación de la zona afectada.

Abordaje inicial y esquemas de manejo de la IPD

El abordaje inicial de la IPD dependerá de la severidad y lo extenso de la infección. Las recomendaciones actuales están basadas en opinión de expertos y consensos más que en ensayos clínicos controlados (Roberts y Simon, 2012). El diagnóstico temprano y el tratamiento apropiado son esenciales, incluyendo tratamientos locales (sobre el pie o la herida) y sistémicos (metabólicos) que a su vez requieren la coordinación de un equipo multidisciplinario en el cuidado del pie, considerando a: diabetólogo, zapatero, ortopedista, psicólogo, cirujano vascular y general, podólogo, radiólogo, educadores, enfermeras y equipos de rehabilitación, incluyendo un infectólogo o un especialista en enfermedades infecciosas (Joseph y Lipsky, 2010; Richard y col, 2011; Korzon y Dziemidok, 2011; Roberts y Simon, 2012). En la revisión de Richard y col. (2011) se encuentra un excelente algoritmo de abordaje del PD y uno a un más detallado en la revisión de Lipsky (2004). En Castro y col. (2009), se encuentra una revisión extensa sobre todos los aspectos relacionados al pie diabético, representando un consenso

de profesionales del pie diabético en México, basado en evidencia.

Las infecciones leves pueden ser tratadas con antibióticos orales, debridación quirúrgica del tejido necrótico, cuidados locales de la herida (evitar que la zona afectada soporte peso), y una vigilancia detallada de la progresión de la infección. Úlceras más severas pueden requerir antibióticos intravenosos, así como reposo en cama y cuidado de las úlceras (Anthony y col., 2008). Aunque la terapia inicial es empírica, para el tratamiento de estas infecciones debe tomarse en cuenta el perfil bacteriológico local (Korzon y Dziemidok, 2011), así como la prevalencia de los organismos resistentes, y mantenerse en contacto con microbiólogos para el seguimiento de las muestras, considerando que la terapia debe irse modificando de modo que se dirija al agente causal para mejorar la evolución (Tascini y col., 2011).

Antibióticos

La terapia con antibióticos es necesaria para tratar virtualmente todas las heridas infectadas, pero puede ser insuficiente sin el cuidado apropiado. Los primeros dos casos de *Staphylococcus aureus* resistente a vancomicina (VISA por sus siglas en inglés) detectados en el 2002, fueron aislados a partir de IPD. Al igual que con el criterio del muestreo, solo debe iniciarse terapia con antibióticos sobre IPD clínicamente comprobadas (Richard y col., 2011; Joseph y Lipsky, 2010).

Para el tratamiento existe una gran variabilidad entre los pacientes, y al no haber definiciones estandarizadas para infección, mejora y cura, especialmente cuando hay intervención quirúrgica y la presencia de comorbilidades, hace que el tratamiento sea un reto (Roberts y Simon, 2012). El conocimiento de la epidemiología local y sus patrones de sensibilidad es una condición importante para el abordaje racional de tratamientos antimicrobianos empíricos (Richard y col., 2011; Tascini y col., 2011).

Los antibióticos sistémicos deben administrarse tan pronto como sea posible en casos de IPD clínicas, pero debe considerarse la función renal y hepática de los pacientes antes de seleccionar un régimen de antibióticos; el uso de antibióticos tópicos y antisépticos solo se

recomienda como terapia complementaria, ya que se ha indicado que el tratamiento tópico podría romper el equilibrio de bio-películas y esto evitará la interferencia de la bio-película con el tratamiento sistémico (Lipsky, 2004).

Se debe seleccionar el régimen empírico de antibióticos con base a la severidad de la infección y la probabilidad del agente etiológico. La terapia de amplio espectro no se requiere rutinariamente, pero está indicada en infecciones severas, en espera de los resultados del cultivo, para hacer una terapia dirigida (Joseph y Lipsky, 2010; Tascini y col., 2011). Los antibióticos intravenosos deben ser de amplio espectro, dirigidos contra *S. aureus*, *Streptococcus*, aerobios Gram negativos y bacterias anaeróbicas.

Antibióticos con eficacia demostrada *in vitro* contra aislados de IPD incluyen al linezolid, estapenem, doripenem, ceftobiprole, dalbavacin, daptomicin y tigeclicina. Aunque ningún régimen en particular o agente antimicrobiano individual ha probado ser superior a otros en IPD (Richard y col., 2011). La monoterapia con quinolonas se usa frecuentemente para el tratamiento de estos pacientes, porque tienen amplio espectro y llegan al hueso, además algunas quinolonas tienen efecto sobre anaerobios. La levofloxacina ha mostrado tener la mejor eficacia microbiológica, pero también provoca la selección de cepas resistentes tanto de Gram positivos como de Gram negativos (Tascini y col., 2011).

Las infecciones leves (IDSA grado 2), generalmente son causadas por aerobios Gram positivos cocos, predominantemente *S. aureus* y *Streptococcus* del grupo B (Lipsky, 2004; Kosinski y Joseph, 2007). Estas pueden ser tratadas al igual que en pacientes no diabéticos enfocándose a antibióticos para Gram positivos (Roberts y Simon, 2012). Infecciones moderadas y severas, grado 3 y 4 de IDSA, es más probable que sean infecciones poli-microbianas, con presencia de microorganismos Gram positivos, Gram negativos, aerobios y anaerobios, y que se requieran antibióticos de amplio espectro para tratarlas.

La duración óptima del tratamiento con antibióticos no está claramente definida y

depende de la severidad de la infección y de la respuesta al tratamiento. En general se considera que las infecciones leves requieren un tratamiento de dos semanas, mientras que las infecciones graves pueden requerir un mes o más (Richard y col., 2011). Para osteomielitis pueden requerirse desde 4 hasta 6 semanas (Roberts y Simon, 2012).

Oxígeno hiperbárico

La terapia de oxígeno hiperbárico (TOHB) también ha sido propuesta en casos donde la infección y la isquemia se consideran parte del problema. Se ha declarado que la TOHB es efectiva para reducir las amputaciones y que facilita la sanación de la úlcera en PD (Niinikoski y col., 2006; Londahl y col., 2010), pero aun existe controversia al respecto, por lo que el uso de TOHB no se recomienda de manera rutinaria (Richard y col., 2011).

Cirugía

La cirugía debe ser lo más conservadora posible dentro de las condiciones del paciente. En infecciones leves y moderadas se puede utilizar para debridación en conjunto con tratamiento de antibióticos. Un consenso reciente del IWGDF clasificó la cirugía en IPD como urgente solo en casos de infecciones necrotizantes o de tejidos blandos profundos, abscesos mayores o gangrenas (Joseph y Lipsky, 2010). Una de las indicaciones definitivas para amputación es la presencia de una infección seria, colocando al paciente en un riesgo de sepsis mortal.

Prevención de IPD

La prevención del PD en pacientes con DM depende de una selección cuidadosa del calzado, inspección diaria de los pies para detectar signos tempranos, higiene diaria en las extremidades y humectación, evitar el auto-tratamiento y comportamiento de alto riesgo (presión en el pie, andar descalzo), consultar rápidamente, ya que es muy importante el tiempo que toman los pacientes en acudir al médico después de detectar una ulceración o herida menor (Tascini y col., 2011) (Anthony y col., 2008). De acuerdo a los datos conocidos, solo es posible retrasar la aparición de IPD, ya que debido a los múltiples factores en juego y el debilitamiento del paciente, cualquier

traumatismo puede servir como puerta de entrada para un agente infeccioso.

CONCLUSIONES

El pie diabético y la infección del pie diabético representan en la actualidad un gran reto médico, debido a la alta prevalencia de diabetes en la población y a la falta de protocolos estandarizados que guíen el tratamiento y seguimiento. Por ello, es necesaria la

coordinación de un equipo multidisciplinario de ciencias de la salud y otras áreas para el correcto seguimiento, lo que puede incrementar los costos y el tiempo del tratamiento para el paciente, sin que esto garantice la recuperación completa. También es importante considerar que si el manejo metabólico del paciente no es adecuado, la posibilidad de reincidencia es elevada. Las medidas de prevención de la aparición del pie diabético, o para prevenir complicaciones como

las infecciones, representan la mejor estrategia, ya que una vez desarrollado el problema es muy complejo de tratar. ■

AGRADECIMIENTOS

VBG, GR y MARL son becarios del programa COFFA, EDI del Instituto Politécnico Nacional, y del SNI del CONACyT. El presente trabajo fue financiado por el proyecto SIP 20120763 del Instituto Politécnico Nacional.

REFERENCIAS

- Abdulrazak, A., Bitar Z. I., Al-Shamali, A. A., and Mobasher, L. A. (2005). Bacteriological study of diabetic foot infections. *Journal of Diabetes Complications*, 19(3): 138-141.
- Al-Benwan, K., Al-Mulla, A., and Rotimi, V. O. (2012). A study of the microbiology of diabetic foot infections in a teaching hospital in Kuwait. *Journal of Infection and Public Health*, 5(1):1-8.
- Anthony, S. F., Braunwald, E., Kasper, D. L., Hauser, S. L., Longo, D. L., Jameson, J. L., and Loscalzo, J. (2008). *Harrisons principles of internal medicine*, 17th Edition.
- Boulton, A. J., Vileikyte, L., Ragnarson-Tennvall, G., and Apelqvist, J. (2005). The global burden of diabetic foot disease. *Lancet*, 366(9498):1179-24.
- Boyko, E. J., Ahroni, J. H., Cohen, V., Nelson, K. M., and Heagerty, P. J. (2006). Prediction of diabetic foot ulcer occurrence using commonly available clinical information: the Seattle Diabetic Foot Study. *Diabetes Care*, 29(12):202-207.
- Castro, G. y col. (2009). Guía clínica basada en evidencia para el manejo del pie diabético. *Medicina Interna de México*, 25(6):481-526.
- Chand, G., Mishra, A. K., Kumar, S., and Agarwal, A. (2012). Diabetic Foot. *Clinical Queries: Nephrology*, 102:144-150.
- Chellan, G., Shivaprakash, S., Karimassery-Ramaiyar, S., Varma, A. K., Varma, N., Thekkeparambil-Sukumaran, M., Rohinivilasam-Vasukutty, J., Bal, A., and Kumar, H. (2010). Spectrum and prevalence of fungi infecting deep tissues of lower-limb wounds in patients with type 2 diabetes. *Journal of Clinical Microbiology*, 48(6):2097-102.
- Citron, D. M., Goldstein, E. J., Merriam, C. V., Lipsky, B. A., and Abramson, M. A. (2007). Bacteriology of moderate-to-severe diabetic foot infections and in vitro activity of antimicrobial agents. *Journal of Clinical Microbiology*, 45(9):2819-28.
- Eckhard, M., Lengler, A., Liersch, J., Bretzel, R. G., and Mäyser, P. (2007). Fungal foot infections in patients with diabetes mellitus—results of two independent investigations. *Mycoses*, 50(52): 14-19.
- Frykberg, R. G. (2003). An evidence-based approach to diabetic foot infections. *The American Journal of Surgery*, 186:44S-54S.
- Haslam, D. W. and James, W. P. (2005). Obesity. *Lancet*, 366:1197-1209.
- Jeffcoate, W. J. and Harding, K. G. (2003). Diabetic foot ulcers. *Lancet*, 361:1545-1551.
- Jeffcoate, W. and Bakker, K. (2005). Word Diabetes Day: footing the bill. *Lancet*, 365:1527Pp.
- Jeffcoate, W. J., Lipsky, B. A., Berendt, A. R., Cavanagh, P. R., Bus, S. A., Peters, E. J., Van Houtum, W. H., Valk, G. D., and Bakker, K. (2008). International Working Group on the diabetic foot. Unresolved issues in the management of ulcers of the foot in diabetes. *Diabetic Medicine*, 25(12):1380-9.
- Joseph, W. S. and Lipsky, B. A. (2010). Medical therapy of diabetic foot infections. *Journal of the American Podiatric Medical Association*, 100(5):395-400.
- Korzon-Burakowska, A. and Dziemi-dok, P. (2011). Diabetic foot - the need for comprehensive multidisciplinary approach. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 18(2):314Pp.
- Kosinski, M. A. and Joseph, W. S. (2007). Update on the treatment of diabetic foot infections. *Clinics in Podiatric Medicine and Surgery*, 24:383-396.
- Lavery, L. A., Armstrong, D. G., Wunderlich, R. P., Mohler, M. J., Wendel, C. S., and Lipsky, B. A. (2006). Risk factors for foot infections in individuals with diabetes. *Diabetes Care*, 29:1288-1293.
- Lipsky, B. A. (2004). A report from the international consensus on diagnosing and treating the infected diabetic foot. *Diabetes/metabolism research and reviews*, 20:S68-S77.
- Lipsky, B. A. and Berendt, A. R. (2009). Topical antimicrobial therapy for treatment chronic wounds. *Clinical Infectious Diseases*, 49:1541-1549.
- Londahl, M., Katzman, P., Nilsson, A., and Hammarlund, C. (2010). Hyperbaric oxygen therapy facilitates healing of chronic foot ulcers in patients with diabetes. *Diabetes Care*, 33:998-1003.
- Mancini, L. and Ruotolo, V. (1997). Diabetic foot: epidemiology. *Rays*, 22(4):511-523.
- Mendes, J. J., Marques-Costa, A., Vilela, C., Neves, J., Candeias, N., Cavaco-Silva, P., and Melo-Cristino, J. (2012). Clinical and bacteriological survey of diabetic foot infections in Lisbon. *Diabetes research and clinical practice*, 95(1):53-61.
- Miller, A. and Henry, M. (2009). Update in diagnosis and treatment of diabetes foot infections. *Physical medicine and rehabilitation Clinics of North America*, 20:611-625.
- Niinikoski, J., Bakker, D., Cronje, F., Lind, F., Mathieu, D., Schmutz, J., Hunt, T., Mani, R., Romanelli, M., Teot, L., Wild, T., and Marroni, A. (2006). ECHM-ETRS joint conference on oxygen and tissue repair. Ravenna, Italy, October 27-28, 2006. Recommendations by the international jury. *The International Journal of Lower Extremity Wounds*, 6(3):139-142.
- Powilson, A. S. and Coll, A. P. (2010). The treatment of diabetic foot infections. *Journal of Antimicrobial Chemother*, 2(65): 3-9.
- Prompers, L., Schaper, N., Apelqvist, J., Edmonds, M., Jude, E., Mauricio, D., Uccioli, L., Urbancic, V., Bakker, K., Holstein, P., Jirkovska, A., Piaggese, A., Ragnarson-Tennvall, G., Reike, H., Spraul, M., Van-Acker, K., Van-Baal, J., Van-Merode, F., Ferreira, L., and Huijberts, M. (2008). Prediction of outcome in individuals with diabetic foot ulcers: focus on the differences between individuals with and without peripheral arterial disease. *The EURODIALE Study. Diabetologia*, 51(5):747-55.
- Ramakant, P., Verma, A. K., Misra, R., Prasad, K. N., Chand, G., Mishra, A., Agarwal, G., Agarwal, A., and Mishra, S. K. (2011). Changing microbiological profile of pathogenic bacteria in diabetic foot infections: time for a rethink on which empirical therapy to choose?. *Diabetologia*, 54(1):58-64.
- Richard, J. L., Sotto, A., and Lavigne, J. P. (2011). New insights in diabetic foot infection. *World Journal of Diabetes*, 15(2):24-32.
- Roberts, A. D. and Simon, G. L. (2012). Diabetic foot infections: the role of microbiology and antibiotic treatment. *Seminars in Vascular Surgery*, 25(2):75-81.
- Shaw, J. E., Sicree, R. A., and Zimmet, P. Z., (2010). Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030. *Diabetes research and clinical practice*, 87(1):4-14.
- Singh, N., Armstrong, D. G., and Lipsky, B. A. (2005). Preventing foot ulcers in patients with diabetes. *JAMA*, 293:217-228.
- Tascini, C., Piaggese, A., Tagliaferri, E., Iacopi, E., Fondelli, S., Tedeschi, A., Rizzo, L., Leonildi, A., and Menichetti, F. (2011). Microbiology at first visit of moderate-to-severe diabetic foot infection with antimicrobial activity and a survey of quinolone monotherapy. *Diabetes research and clinical practice*, 94(1):33-9.
- Van-Acker, K., De-Block, C., and Abrams, P. (2002). The choice of diabetic foot ulcer classification in relation to the final outcome. *Wounds*, 14:16-25.
- Wild, S., Roglic, G., Green, A., Sicree, R., and King, H. (2004). Global prevalence of diabetes: estimates of the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care*, 27:1047-1053.

FUNCIÓN REFORZANTE DEL ALIMENTO DESPUÉS DE UN PERÍODO DE PRIVACIÓN SOBRE LA CONDUCTA ALIMENTARIA EN RATAS: UN VÍNCULO ENTRE MOTIVACIÓN Y CONDICIONAMIENTO

FOOD REINFORCEMENT FUNCTION AFTER DEPRIVATION ON EATING BEHAVIOR IN RATS: A LINK BETWEEN MOTIVATION AND CONDITIONING

Felipe de Jesús Díaz-Reséndiz

Centro Universitario del Sur, Universidad de Guadalajara
Av. Enrique Arreola Silva 883. Col. Centro, Ciudad Guzmán, Jalisco, México, C.P. 49000.

Autor para correspondencia: felipe.resendiz.udg@gmail.com

Fecha de recepción: 30 de marzo de 2013 / Fecha de aceptación: 21 de octubre de 2013.

RESUMEN

El consumo de alimento puede ser alterado, sin cambiar sus propiedades, mediante la modificación del tiempo entre cada acceso y la duración del acceso al mismo. Entender la influencia de cada una de estas variables en el consumo de alimentos, permitirá ampliar la comprensión que se tiene, sobre problemas de salud pública como la obesidad, así como entender el consumo excesivo o deficitario de alimentos. En el presente estudio se manipularon ambas variables para observar sus efectos en la conducta alimentaria en ratas. Se utilizó un diseño factorial en el que se combinaron tres niveles de tiempo entre accesos al alimento, 720, 180 y 45

minutos, con tres niveles de tiempo de acceso al alimento, 40, 10 y 2.5 minutos. El consumo de alimento se comparó con la ingesta durante una línea base de 15 días de acceso libre al alimento. Se encontró que aumentar el intervalo entre accesos al alimento resulta en más consumo de alimento. Disminuir el tiempo de acceso al alimento controla reacciones más rápidas frente a la oportunidad de comer que, cuando el alimento está disponible todo el tiempo. Esta disminución también controla que en cada oportunidad de comer se consuma alimento. Cuando se aumenta el tiempo de acceso al alimento, el peso corporal aumenta. Los resultados desde la investigación básica aportan conocimiento

sobre los posibles efectos iatrogénicos de una inadecuada exposición a períodos de restricción y acceso al alimento, que es una característica presente en la obesidad y los trastornos del comportamiento alimentario. A nivel teórico, la presente investigación es un avance sobre la integración conceptual de dos áreas de conocimiento en análisis experimental de la conducta.

PALABRAS CLAVE: Obesidad, alimento, restricción alimentaria, ratas.

ABSTRACT

Food intake can be altered, without changing food properties, through

modification of the inter access-to-food intervals and access-to-food duration. Understanding the influence of each of these variables on food intake will allow a better comprehension of problems of public health, such as obesity, and understanding of excessiveness or deficiency in the consumption of food. In this study both variables were manipulated to observe their effects on food intake behavior in rats. A factorial design was used to combine three different inter access-to-food intervals (720, 18 and 45 minutes), with three levels of access-to-food duration (40, 10 and 2.5 minutes). Food intake was compared with a base line consumption of 15 days of free access-to-food. It was found that increasing the intervals of access-to-food yielded more food intake. Decreasing the time of access-to-food controlled faster reactions to the opportunity to eat than when food was available at the time. This decrease also controlled that every opportunity to consume food was taken. When duration of access-to-food was increased, body weight increased too. Results from this basic research study contribute to knowledge about the possible iatrogenic effects of inadequate exposure to periods of restriction and access to food, characteristic of obesity and eating disorders. From a theoretical standpoint, this study is a step forward in the conceptual integration of two separated areas of knowledge in experimental analysis of behavior.

KEYWORDS: Obesity, food, food deprivation, rats.

INTRODUCCIÓN

Tradicionalmente se ha considerado que el análisis experimental de la conducta y la teoría de la motivación, son dos áreas de conocimiento diferentes entre sí. Sin embargo, es posible obtener hallazgos, comparables si el énfasis es en la variable independiente, más que en la interpretación de los efectos encontrados. Después del auge del enfoque experimental en psicología (Skinner,

1938; Keller y Schoenfeld, 1950), surgieron nuevos hallazgos, en los que el énfasis recayó sobre la variable dependiente y se minimizó el efecto de las manipulaciones para destacar los cambios conductuales como resultado de procesos internos, i.e., biológicos o cognitivos (Bolles, 1967). Sin embargo, la integración de hallazgos que surgen de áreas diferentes entre sí, es una estrategia fructífera para avanzar en el conocimiento científico, y la sistematización es un requisito indispensable (Sidman, 1960).

Un ejemplo de esta estrategia integradora en psicología es el Sistema t, que consistió en organizar los programas de reforzamiento conforme a la variable tiempo (Schoenfeld y Cole, 1972). Más recientemente se demostró, cómo un estímulo desarrolla propiedades reforzantes, dependiendo de su ubicación temporal entre reforzadores sucesivos (Escobar y Bruner, 2009). Otro ejemplo de integración, es el caso de la reducción de los hallazgos reportados como anómalos a la teoría de la conducta en el área de beber inducido por el programa, a un caso de condicionamiento operante (Roca y Bruner, 2011), enfatizando las operaciones experimentales (Ruiz y Bruner, 2005). Junto con los ejemplos de integración sistemática, en la literatura existe evidencia del surgimiento de nuevas áreas de investigación, a partir del re-análisis del conocimiento previo. Por ejemplo, Collier y col. (1972), demostraron cómo el análisis de las mismas unidades conceptuales permitió el fortalecimiento del análisis experimental de la conducta alimentaria. Específicamente, describieron el efecto de aumentar el requisito de respuesta por acceso a la comida, usando programas de reforzamiento, en los que se incrementó progresivamente el número de respuestas para entregar cada comida. Estos programas denominados de razón fija (RF) progresivos (RF 1 a RF 5/20), se utilizaron para analizar su efecto en la conducta alimentaria. Encontraron que el número de comidas disminuyó conforme aumentó el tamaño del programa RF, complementariamente, la duración de

los episodios de alimentación aumentó conforme aumentó el valor del programa de RF. Concluyeron que es necesario analizar las variables presentes en los escenarios "naturales", investigando sus efectos en un ambiente controlado como en el laboratorio (Collier y col., 1987).

La variable temporal intervalo entre accesos al reforzador o satisfactor y duración del acceso al reforzador ha mostrado ser pertinente para el análisis de la conducta alimentaria. Por ejemplo, algunas de las estrategias a nivel gubernamental destacan el papel de estas variables temporales como factores conductuales que propician casos de sobrepeso y obesidad (Secretaría de Salud, 2006; Secretaría de Salud, 2010). Una estrategia para generar conocimiento sobre el papel de estas variables es controlarlas y medir su efecto en la ingesta de alimento. Asimismo, estas variables han mostrado ser importantes en el análisis experimental de la conducta. Por ejemplo, Brackney y col. (2011), manipularon el nivel de privación de alimento en ratas expuestas a programas de reforzamiento de intervalo variable de reforzamiento con sacarosa. Encontraron que aumentar la privación de alimento, resultó en que la tasa de episodios de alimentación aumentó. En un estudio previo, se describió la conducta alimentaria de ratas que tuvieron acceso libre al alimento y al agua en períodos de 24 horas. Se encontró que la conducta alimentaria alternó entre episodios sucesivos de comer y no comer, que se caracterizaron por ser más largos durante la obscuridad que en el día (Díaz y Bruner, 2007). Esta alternación también está presente en los programas de RF que usaron Collier y col. (1972), porque la intermitencia aumenta conforme se incrementa el tamaño de la razón. Ambos casos podrían caracterizarse como fenómenos de la motivación, porque los períodos con comida y sin comida son la variable típica en los estudios de motivación (Bolles, 1967). Asimismo, ambos casos representan el uso de programas de reforzamiento en los que la característica típica es la intermitencia

entre reforzadores sucesivos. En el presente estudio se utilizaron las variables temporales intervalo entre accesos a la comida (IEA) y tiempo de acceso (TA) al alimento para conectar hallazgos de ambas áreas. Por lo tanto, el propósito fue investigar el efecto de variar la duración del IEA y del TA sobre la conducta alimentaria en ratas, para generar hallazgos comparables con la evidencia reportada en la teoría de la motivación y el análisis experimental de la conducta.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sujetos

Se utilizaron nueve ratas de la cepa Wistar, hembras de tres meses de edad que nunca habían sido expuestas a ninguna condición experimental. Las ratas obtuvieron toda la comida durante el TA y tuvieron acceso libre al agua durante todas las manipulaciones. Los sujetos fueron tratados conforme los protocolos vigentes en la institución (Universidad de Guadalajara), para el trabajo con animales de experimentación.

Aparatos

Se utilizaron tres cajas de condicionamiento operante modulares (Modelo 80004, Lafayette Instrument, Indiana, Estados Unidos), que se introdujeron en cubículos de madera sonoamortiguados y equipados con un ventilador para facilitar la circulación del aire y generar ruido blanco para enmascarar ruidos ajenos a la investigación. Cada caja estaba equipada con dos palancas (Modelo 80110M, Lafayette Instrument, Indiana, Estados Unidos), sensibles a una fuerza de 15 N. Las palancas se colocaron equidistantes respecto de la charola para la comida, la cual se encontraba al centro del panel frontal. Un foco (Modelo 80221M, Lafayette Instrument, Indiana, Estados Unidos), permaneció encendido durante el período de luz. Un dispensador de alimento (Modelo 80209-45, Lafayette Instrument, Indiana, Estados Unidos), entregó en cada operación un pellet de 45 mg (Bio-Serv, New Jersey, Estados

Unidos). El dispensador de agua (Modelo 80201M, Lafayette Instrument, Indiana, Estados Unidos), reguló en cada entrega la caída de una gota de 0.1 mL. Se utilizó una computadora equipada con *software* ABET II (Modelo 89501, Lafayette Instrument, Indiana, Estados Unidos). Todo el equipo se encontraba en el mismo cuarto donde se condujeron las sesiones experimentales.

Procedimiento

Se colocó permanentemente a cada una de las ratas en las cajas de condicionamiento durante las 24 horas. Durante 15 días se permitió el acceso libre al alimento y al agua, a este grupo se le consideró el grupo control o línea base (LB), en el que cada respuesta en la palanca fue reforzada con un pellet, y cada lengüetazo en la pipeta fue reforzado con una gota de agua.

Posteriormente, se implementaron las condiciones experimentales. El ciclo de luz-obscuridad alternó cada 12 horas. Durante el acceso libre y las condiciones experimentales el ciclo de luz siempre inició a las 9:00 hrs. Al final de cada día se sacaba a los sujetos de las cajas experimentales para revisar el funcionamiento del equipo, rellenar los comederos, los bebederos y

limpiar las cajas. Antes de volver a iniciar el experimento se pesaba a los sujetos. Todo este proceso duraba 15 minutos. Se utilizó un diseño factorial que incluyó tres valores del IEA 720, 180 ó 45 minutos en combinación con 40, 10 ó 2.5 minutos del TA, en este orden. Cada condición estuvo vigente durante 15 días o hasta que las ratas alcanzaran el 80 % de su peso. Dado que sólo se contaba con tres cajas, las condiciones experimentales se condujeron sucesivamente en el orden descrito y conforme a la disponibilidad de sujetos que se tenía en el bioterio.

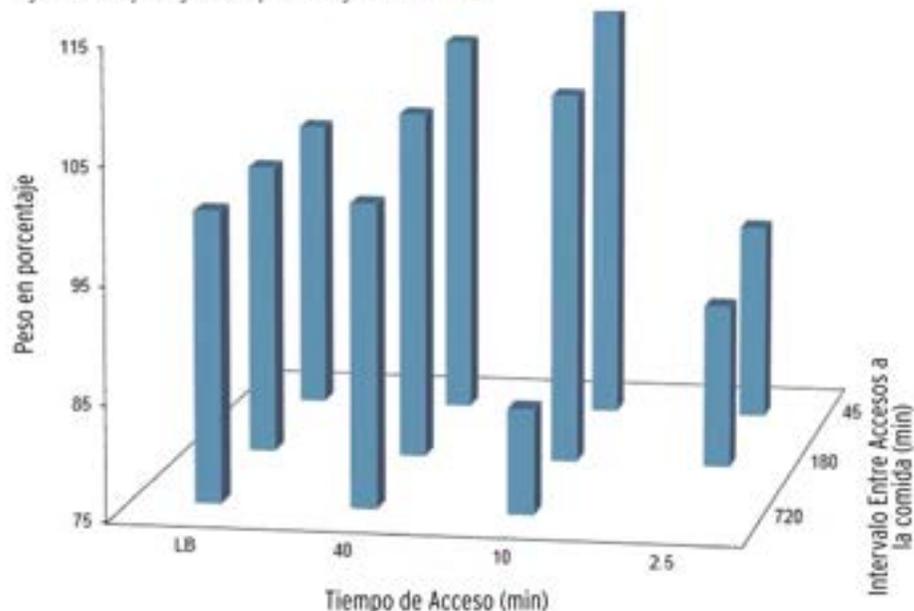
RESULTADOS

Los datos se describen utilizando el orden de exposición a cada combinación de las variables intervalo entre accesos y duración de acceso al alimento. En todas las figuras faltan los datos de la combinación del IEA de 720 minutos con el TA de 2.5 minutos, porque estas ratas alcanzaron el 80% de su peso en esta condición. Este porcentaje se usó como criterio para detener el estudio y evitar poner en riesgo la vida de los sujetos. En la Figura 1 se muestra el peso de las ratas como porcentaje de la LB. Se encontró que el peso de las ratas expuestas al IEA de 720

Figura 1.

Peso corporal como porcentaje de línea base.

Figure 1. Body weight as a percentage of base line.



minutos, disminuyó del 100 % durante la LB, hasta el 80 % cuando la duración del TA fue de 10 minutos. Para las ratas expuestas al IEA 180, se encontró que el peso describió una función de U invertida, al acortar la duración del TA de 40 a 2.5 minutos. Cambiar de la LB a TA 40 y 10 minutos, resultó en que el peso de las ratas aumentó por arriba del 100 %, observado durante la LB. Cambiar a la condición del TA de 2.5 minutos, resultó en una disminución del peso al 85 %, respecto a la LB. Para las ratas expuestas al IEA de 45 minutos se encontró que el peso aumentó del 100 % durante la LB, a 110 y 115 % respectivamente, a la duración del TA de 40 y 10 minutos. Durante el TA 2.5 minutos, el peso de las ratas disminuyó hasta el 95 %.

En las Figuras 2a y 2b, y en las Figuras 3a y 3b, se muestra el análisis de la conducta alimentaria durante el período de luz y durante el período de oscuridad. En las Figuras 2a y 2b, se presenta el consumo de alimento como porcentaje del consumo respecto de la LB. Para todas las ratas, se encontró que el consumo de alimento fue mayor durante el período de oscuridad, que durante la luz. Para las ratas expuestas al IEA 720 en el período de luz, se encontró que el consumo de alimento aumentó respecto de la LB, bajo la duración del TA de 40 y 10 minutos respectivamente. Para estas mismas ratas, durante la oscuridad, el consumo de alimento disminuyó conforme se acortó la duración del TA. Para las ratas expuestas al IEA 180, se encontró que el consumo de alimento durante el día aumentó ligeramente de pasar de la LB al TA 40, 10 y 2.5 minutos respectivamente. Durante el período de oscuridad, para estas mismas ratas, se observó que al disminuir el tiempo de TA de 40 a 2.5, disminuyó el porcentaje de alimento consumido, con relación a la LB. Para las ratas expuestas al IEA 45 minutos se encontró que el consumo de alimento durante ambos períodos se mantuvo constante desde la LB y bajo las duraciones del TA de 40, 10 y 2.5 minutos. Cabe destacar que de los tres grupos de ratas, los sujetos bajo la duración del IEA

de 45 minutos, mostraron el consumo de alimento más estable en todas las condiciones y durante ambos períodos del día.

En las Figuras 3a y 3b, se presenta el tiempo que las ratas tardaron en empezar a consumir alimento, una vez que inició

el acceso al alimento. En la Figura 3a se muestran los datos durante la fase de luz, y en la Figura 3b se muestran los datos durante la fase de oscuridad. Para las ratas expuestas al IEA de 720 minutos, se encontró que la latencia para consumir alimento durante la luz, fue menor a dos

Figura 2a.

Consumo de alimento durante el ciclo de luz como porcentaje de la línea base.
Figure 2a. Food intake during light cycle as a percentage of base line.

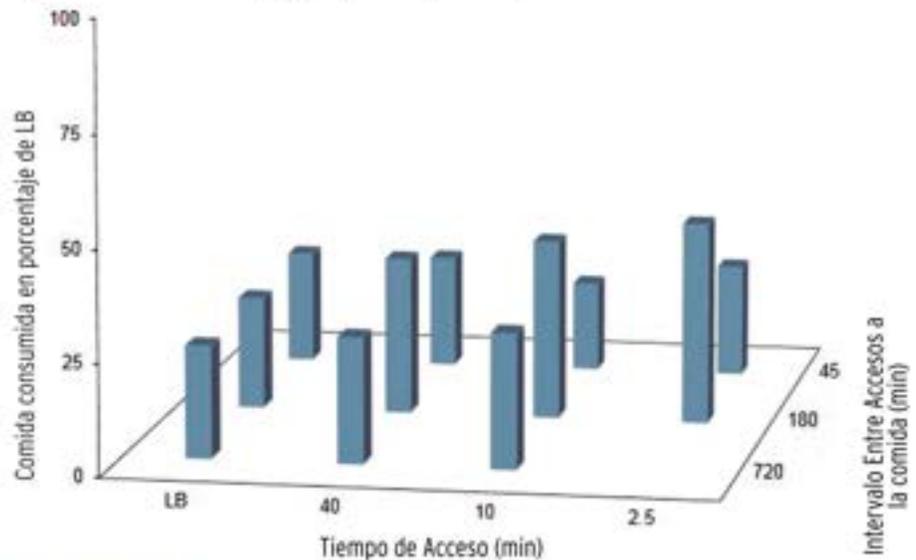


Figura 2b.

Consumo de alimento durante el ciclo de oscuridad como porcentaje de la línea base.
Figure 2b. Food intake during dark cycle as a percentage of base line.

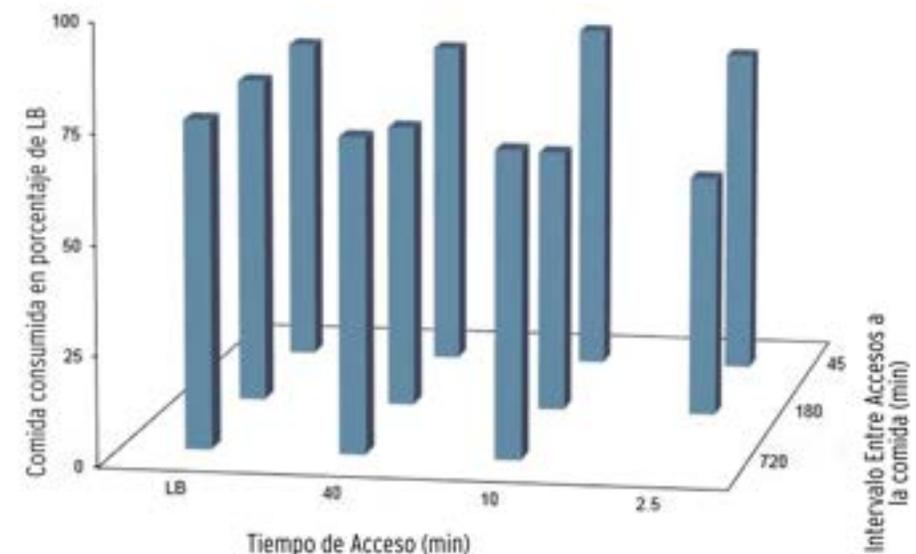
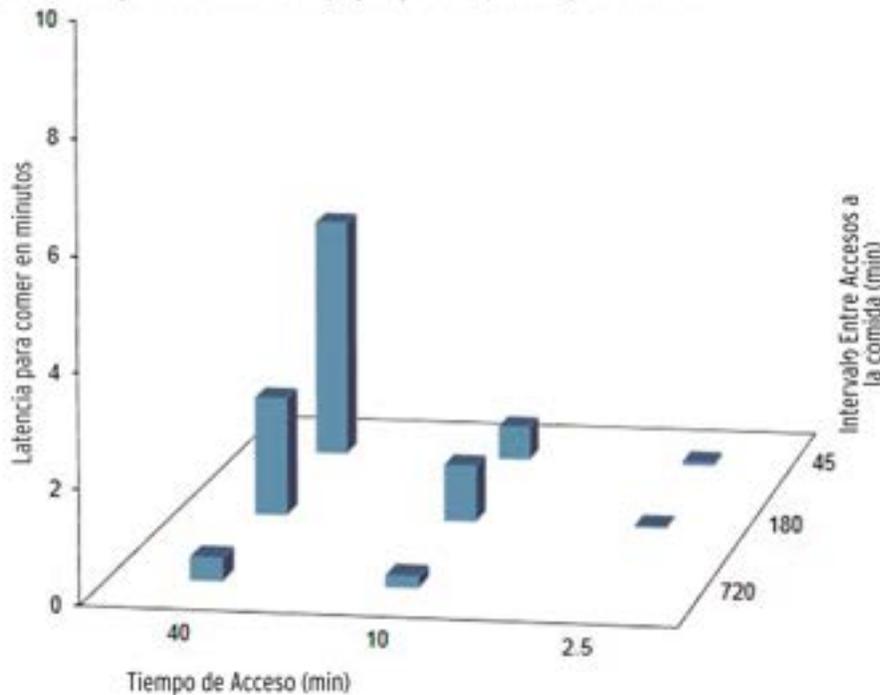


Figura 3a.

Latencia para el consumo de alimento durante el ciclo de luz como porcentaje de la línea base.
Figure 3a. Latency for food intake during light cycle as a percentage of base line.



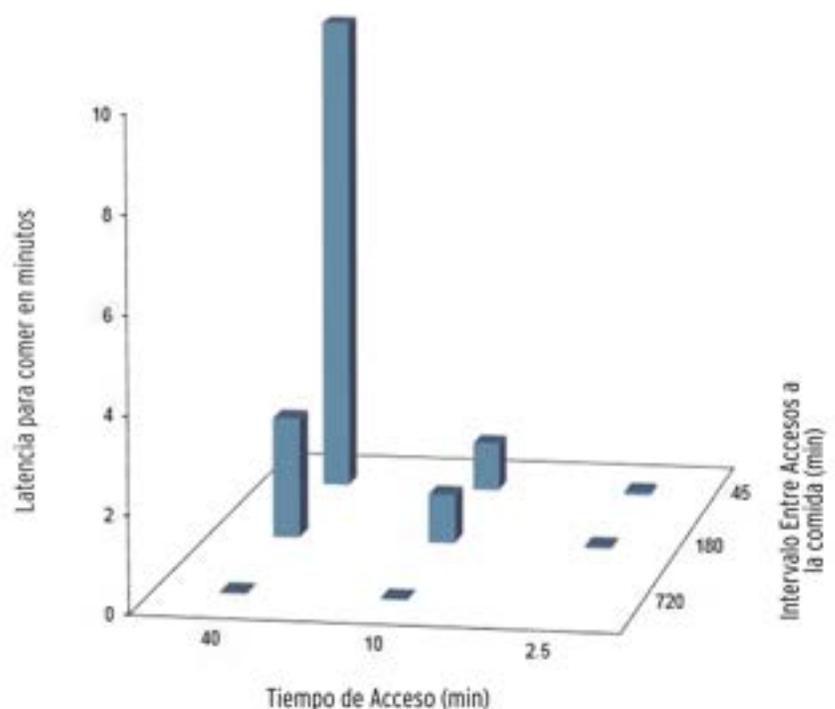
dos minutos. Durante el tiempo de acceso de 2.5 minutos la latencia fue menor a un minuto.

En las Figuras 4a y 4b, se presenta el análisis del tiempo de acceso al alimento (TA), en los que por lo menos ocurrió una respuesta ($R > 0$). Se encontró que prácticamente en todos los accesos las ratas emitieron por lo menos una respuesta por comida, excepto para las ratas en la condición de 720 de IEA en combinación con el TA de 2.5 minutos, porque antes de llegar a esta condición las ratas alcanzaron el 80 % del peso en alimentación libre. En la Figura 4a, cabe destacar que para las ratas bajo el IEA de 720 minutos y durante el período de luz, $R > 0$ aumentó de 75 a 100 % al pasar del TA de 40 a 10 minutos. Para estas mismas ratas se observó que $R > 0$, se mantuvo en el 100 % durante el período de oscuridad (Figura 4b). Para las ratas expuestas al IEA 180 y 45 minutos durante la fase de oscuridad, $R > 0$ fue del 100 % bajo las tres duraciones del TA.

minutos durante ambos accesos 40 y 10 minutos. Para las ratas bajo el IEA de 180 minutos, durante la fase de luz, se encontró que la latencia disminuyó sistemáticamente, conforme disminuyó la duración del tiempo de acceso, de 40 a 10 y 2.5 minutos. Para las ratas bajo el IEA de 45 minutos durante el período de luz, se observó que la latencia durante el acceso de 40 minutos fue de aproximadamente siete minutos y disminuyó a menos de un minuto durante los accesos de 10 y 2.5 minutos. En la Figura 3b se observa que para las ratas expuestas al IEA de 720 minutos, en combinación con el acceso de 40 y 10 minutos, la latencia para iniciar el consumo de alimento fue menor a un minuto en ambas condiciones. Para las ratas expuestas al IEA de 180 minutos, se encontró que la latencia disminuyó de cuatro a dos y menos de un minuto, respectivamente, a las duraciones del acceso al alimento de 40, 10 y 2.5 minutos. Para las ratas expuestas al IEA de 45 minutos, se encontró que la latencia durante el acceso de 40 minutos fue de 10 minutos, al pasar al acceso de 10 minutos disminuyó la latencia a

Figura 3b.

Latencia para el consumo de alimento durante el ciclo de oscuridad como porcentaje de la línea base.
Figure 3b. Latency for food intake during dark cycle as a percentage of base line.



DISCUSIÓN

En la presente investigación, se enfatizó la importancia de conceptualizar en un continuo las dos caras evidentes de la alimentación. Por un lado, destaca cómo la función reforzante del alimento incrementa al aumentar la privación y disminuir el tiempo de acceso. En el otro lado del continuo, se demostró cómo la función del alimento se degrada al disminuir el intervalo entre accesos e incrementar el tiempo de acceso. Ambas variables están presentes en los casos de conducta alimentaria en humanos y permiten exponer situaciones análogas. En el extremo del continuo donde el intervalo entre accesos aumenta y el tiempo de acceso disminuye, están los casos caracterizados por una dieta restrictiva, con ingesta de alimento en un período corto de tiempo. Este hallazgo es importante para el diseño de programas de modificación, pero sobre todo de prevención de conductas alimentarias de riesgo. Por ejemplo, en una evaluación del comportamiento alimentario, es pertinente investigar la periodicidad con la que el usuario consume y no consume alimento. Esta estrategia permitirá anteponerse a un posible caso de trastorno del comportamiento alimentario, si se identifica que el período de acceso al alimento es reducido, lo cual, consecuentemente tiene que estar precedido por un período de privación de alimento. En el otro extremo del continuo, está el caso donde la privación de alimento disminuye y el tiempo de acceso al alimento aumenta. Esta condición es análoga a los casos en los que la disponibilidad del alimento resulta en consumos por encima de la cantidad habitual. En la conducta de los humanos, es el caso de la obesidad, que en la mayoría de los casos, se caracteriza por una exacerbación del valor reforzante del alimento, sin llegar a la saciedad, dado que es evidente que el consumo excesivo de alimento, no puede explicarse por una deficiencia fisiológica causada por la falta de alimento. La sugerencia es incluir tanto en las intervenciones, como en la práctica preventiva, horarios de alternación entre consumo y no consumo de alimento. Asimismo, se sugiere investigar la

Figura 4a.

$R > 0$ durante el ciclo de luz como porcentaje de la línea base.
Figure 4a. $R > 0$ during light cycle as a percentage of food intake.

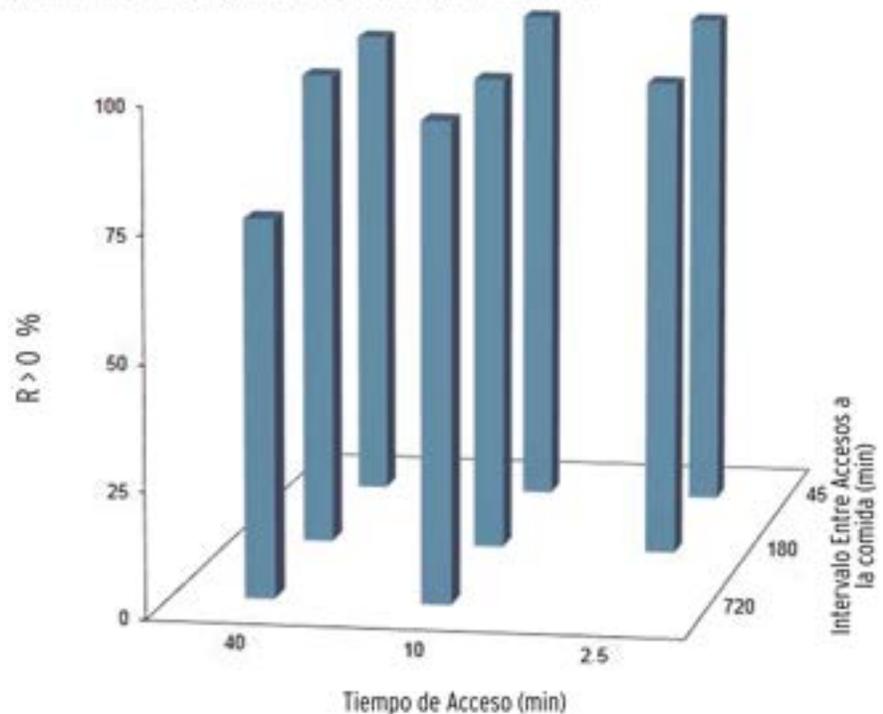
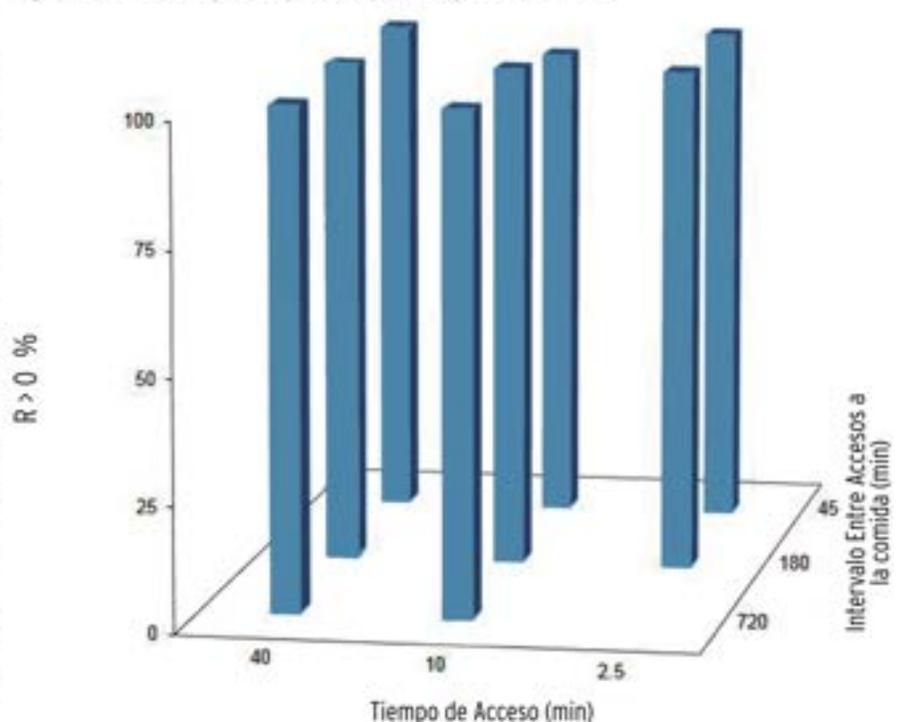


Figura 4b.

$R > 0$ durante el ciclo de oscuridad como porcentaje de la línea base.
Figure 4b. $R > 0$ during dark cycle as a percentage of food intake.



presencia de factores psicológicos, que estén facilitando el consumo de alimento, independientemente del período de privación. Aunque estos factores sobrepasan los propósitos del presente estudio, si permiten sugerir, que variables tangibles, como el tiempo de privación y la duración del acceso al alimento, pueden alertar sobre la presencia de sobrepeso y obesidad.

En el presente estudio, se encontró que variar la duración del intervalo entre accesos al alimento y la duración del acceso al alimento para evaluar la conducta alimentaria en ratas, es una estrategia que permite generar hallazgos comparables con la evidencia reportada en la teoría de la motivación y el análisis experimental de la conducta. Se encontró, conforme a los hallazgos reportados principalmente en la teoría de la motivación, que el peso de las ratas aumentó por arriba del peso obtenido durante la LB, a pesar de la disminución en el TA, excepto para las ratas bajo el IEA de 720 minutos. Una de las principales variables dependientes en la teoría de la motivación (Booth, 2008; Fetissov y Meguid, 2010) y en el análisis experimental de la conducta alimentaria (Swithers y col., 2010; Repucci y Petrovich, 2012), son los cambios en el peso de los sujetos. Asimismo, en el análisis experimental de la conducta, el peso es una de las variables que forman parte del proceso de condicionamiento en prácticamente todos los estudios. Un análisis de los artículos publicados en el *Journal of the Experimental Analysis of Behavior*, muestra que en el 95 % de los manuscritos, el control del peso, casi siempre al 80 %, forma parte del procedimiento estándar.

Una de las variables que comúnmente se reportan en la teoría de la motivación, es el consumo de alimento, presumiblemente porque controla parte de los cambios en el peso de los sujetos (Galarce y Holland, 2009). En el presente estudio, se encontró que el consumo de alimento fue mayor durante la obscuridad en comparación con la luz. Dicho hallazgo sobre esta variable, es el más común que se ha reportado desde el inicio del análisis de la conducta alimentaria (Richter, 1927), así como en el análisis experimental de la conducta (Skinner, 1930). Es evidente la vigencia de este dato (Díaz y Hernández,

2009), en el contexto de los problemas teóricos y experimentales alrededor del consumo de alimento, específicamente sobre los casos de malnutrición por exceso o por déficit, que son los extremos del continuo en el que se pueden situar algunos de los problemas derivados del análisis de la conducta alimentaria, donde el consumo de alimento es la medida representativa de la ejecución de un sujeto en un programa de reforzamiento, en el que, como en el presente estudio, la intermitencia del reforzador modula la conducta independientemente del procedimiento i.e., economía abierta versus economía cerrada (Díaz y Hernández, 2011). Es pertinente destacar, que el análisis del consumo de alimento, ha permitido integrar conocimiento catalogado como anómalo a los principios establecidos en análisis de la conducta. Por ejemplo, Roca y Bruner (2011), demostraron que el beber inducido por el programa, se reduce a un caso de condicionamiento operante, si se analiza la cantidad de comida y agua que ingieren los sujetos dentro y fuera de la sesión de beber inducido.

El análisis de la conducta alimentaria, incluye entre algunas variables, el tiempo que los sujetos tardan en hacer contacto con el alimento, una vez que inició el acceso a éste. En el presente estudio, se encontró que la latencia varió de acuerdo a la duración de ambas variables. Específicamente, a mayor duración del intervalo entre accesos, menor latencia para iniciar el consumo de alimento, complementariamente, a menor duración del tiempo de acceso al alimento, menor latencia. Ambos hallazgos han sido reportados en estudios de la motivación y del análisis de la conducta (Brackney y col., 2011). En teoría de la motivación, los cambios en la latencia se han interpretado como parte de las modificaciones de la fuerza del impulso o drive, que controla el consumo de alimento (Bolles, 1962). Es interesante notar cómo cambia la interpretación de la misma variable bajo los efectos de procedimientos nominalmente diferentes. El enfoque del presente estudio, consistió en resaltar los efectos de los procedimientos experimentales, que permitan la integración de hallazgos reportados bajo diferentes

ópticas, más que apelar a la creación de "nuevas" áreas de conocimiento.

Una variable típica de los estudios, bajo la óptica del análisis de la conducta, es $R > 0$. Los hallazgos sobre esta variable, mostraron que prácticamente en todas las ocasiones en que las ratas tuvieron acceso al alimento emitieron por lo menos una respuesta por comida. En los procedimientos de beber inducido por el programa, se ha mostrado que las ratas comen y beben mientras la intermitencia por comida se mantenga. Se ha reportado que el índice de discriminación aumenta y por lo tanto $R > 0$ conforme se alarga la duración del componente de extinción (López y Bruner, 2009). En el presente estudio, el período de extinción es análogo al intervalo entre accesos porque es un período de tiempo en el que no hay alimento disponible. Asimismo, el componente de reforzamiento es análogo al tiempo de acceso que es un período de tiempo en donde el alimento está disponible. Aunque el índice de discriminación es una medida propia del análisis de la conducta, existen ejemplos en la conducta humana y animal que es apropiado citar. Por ejemplo, el establecimiento de patrones conductuales o hábitos de consumo se establecen más fácilmente si a los sujetos se le enseña a discriminar en qué horario tiene que consumir alimento, al margen del déficit fisiológico. Por ejemplo, los animales en situaciones de búsqueda de alimento, a través de la recolección o la cacería, discriminan opciones que en el laboratorio se han evaluado, con el propósito de elaborar modelos matemáticos, en los que se evalúa el efecto de la disponibilidad de alimento (Thorne, 2010). En los escenarios "naturales", la conducta que emiten los cazadores, individual o colectivamente, está regulada por la disponibilidad del alimento y la probabilidad de obtener una recompensa cada que inviertan tiempo y esfuerzo en perseguir, atrapar y consumir a la presa.

CONCLUSIONES

La función reforzante del alimento incrementa al aumentar la privación y disminuir el tiempo de acceso. La función del alimento se degrada al disminuir el tiempo de privación e incrementar el período de

acceso. La latencia para iniciar el consumo de alimento disminuye mientras aumenta la privación y disminuye el tiempo de acceso. La latencia para iniciar el consumo de alimento aumenta cuando disminuye la privación y se incrementa el tiempo de acceso. Cada oportunidad de consumo de alimento que se presente será aprovechada, a mayor número de veces que se presente la oportunidad de comer, el consumo de alimento ocurrirá en cada ocasión. Sobre estas conclusiones es posible sugerir, que hace falta investigar el papel de nuevas variables, como el efecto del tamaño del alimento sobre la conducta

alimentaria. Los siguientes estudios en el laboratorio, están enfocados en generar conocimiento al respecto. En relación con el problema de la obesidad y el sobrepeso, si bien son reconocidos por el gobierno federal, no presentan datos o evidencia al respecto de la función de las variables privación y acceso al alimento, que son las que experimentalmente se exploraron en esta investigación. Es importante destacar, que si bien la investigación básica no permite intervenir de manera directa en la solución de los problemas a nivel social, genera líneas de acción directa que

sientan las bases para la aplicación de este conocimiento. Recientemente, ha cobrado auge la vinculación entre estas dos áreas de conocimiento, principalmente por el desfase que se ha señalado en análisis de la conducta entre investigación básica y aplicada. El presente estudio contribuye en la generación de conocimiento y queda pendiente la evaluación de su aplicabilidad y su efectividad en la conducta humana. ■

AGRADECIMIENTO

Proyecto financiado a través del registro CONACyT 131896

REFERENCIAS

- Bolles, R. (1962). The readiness to eat and drink: The effect of deprivation conditions. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 55: 230-234.
- Bolles, R. (1967). *Theory of motivation*. New York: Harper y Row.
- Booth, D. (2008). Physiological regulation through learnt control of appetites by contingencies among signals from external and internal environments. *Appetite*, 51: 433-441.
- Brackney, R. J., Cheung, T. H., Neisewander, J. L., and Sanabria, F. (2011). The isolation of motivational, motoric, and schedule effects on operant performance: a modeling approach. *Journal of the Experimental Analysis of Behavior*, 96: 17-38.
- Collier, G., Hirsch, E., and Kanarek, R. (1987). *The operant revisited*. En W. K. Honig y J. E. R. Staddon. *Handbook of Operant Behavior* (pp. 28-52). New Jersey: Prentice Hall.
- Collier, G., Hirsch, E., and Hamlin, P. (1972). The ecological determinants of reinforcement in the rat. *Physiology and Behavior*, 9: 705-716.
- Díaz, F. y Bruner, C. (2007). Comer y beber en ratas con libre acceso a la comida y al agua. *Acta Comportamental*, 15: 111-130.
- Díaz, F. y Hernández, V. (2009). *Análisis de la conducta y teoría de la motivación: el caso de la conducta alimentaria*. En A. López y K. Franco (Eds.), *Comportamiento alimentario: Una perspectiva multidisciplinaria*. (pp. 123-137). México: Editorial Universitaria.
- Díaz, F. y Hernández, V. (2011). *El concepto de saciedad en el análisis de la conducta alimentaria*. En A. López, y A. Martínez (Coords), *Del hambre a la saciedad: Contribuciones filosóficas, psicológicas, socioantropológicas y biológicas*. (pp. 116-131). México: Editorial Universitaria.
- Escobar, R. y Bruner, C. (2009). Observing responses and serial stimuli: Searching for the reinforcing properties of the S-. *Journal of the Experimental Analysis of Behavior*, 92: 215-231.
- Fetissov, S. y Meguid, M. (2010). Serotonin delivery into the ventromedial nucleus of the hypothalamus affects differently feeding pattern and body weight in obese and lean Zucker rats. *Appetite*, 54: 346-353.
- Galarce, E. M. y Holland, P. C. (2009). Effects of cues associated with meal interruption on feeding behavior. *Appetite*, 52: 693-702.
- Keller, F. S. and Schoenfeld, W. N. (1950). *Principles of psychology*. New York: Appleton-Century Crofts.
- López, C. y Bruner, C. A. (2009). Efectos de tiempo relativo sobre una discriminación basada en el reforzamiento diferencial de la respuesta que produce el agua en una situación de beber inducido por el programa. *Revista Mexicana de Análisis de la Conducta*, 35: 39-56.
- Reppucci, C. J. and Petrovich, G. D. (2012). Learned food-cue stimulates persistent feeding in sated rats. *Appetite*, 59: 437-447.
- Richter, C. P. (1927). Animal behavior and internal drives. *The Quarterly Review of Biology*, 2: 307-343.
- Richter, C. P. (1927). Animal behavior and internal drives. *The Quarterly Review of Biology*, 2: 307-343.
- Roca, A. y Bruner, C. A. (2011). Un análisis del origen del consumo excesivo de agua durante las sesiones de beber inducido por el programa. *Revista Mexicana de Análisis de la Conducta*, 37: 177-204.
- Ruiz, J. A. y Bruner, C. A. (2005). Transformación de un programa de intervalo fijo de reforzamiento con agua en un procedimiento de beber inducido por el programa. *Revista Mexicana de Análisis de la Conducta*, 31: 47-66.
- Schoenfeld, W. N. and Cole, B. K. (1972). *Stimulus schedules: The t-tau system*. Nueva York: Harper y Row Publishers.
- Secretaría de Salud (2006). Boletín de Práctica Médica Efectiva. [En línea]. Disponible en: <http://www.insp.mx/centros/sistemas-de-salud/servicios/nucleo-de-liderazgo-en-salud/publicaciones/931-boletines-de-practica-medica-efectiva.html>. Fecha de consulta: 29 de septiembre de 2012.
- Secretaría de Salud (2010). Acuerdo Nacional para la Salud Alimentaria: Estrategia contra el sobrepeso y la obesidad. [En línea]. Disponible en: <http://www.promocion.salud.gob.mx/dgpps/descargas1/programas/Acuerdo%20Original%20con%20creditos%2015%20feb%2010.pdf>. Fecha de consulta: 29 de septiembre de 2012.
- Sidman, M. (1960). *Tactics of scientific research*. Nueva York: Basic Books.
- Skinner, B. F. (1930). On the conditions of elicitation of certain eating reflexes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 16: 433-438.
- Skinner, B. F. (1938). *The behavior of organisms: An experimental analysis*. Nueva York, EE. UU: Appleton-Century-Crofts.
- Swithers, S. E., Martin, A. A., Clark, K. M., Laboy, A. F., and Davidson, T. L. (2010). Body Weight Gain in Rats Consuming Sweetened Liquids: Effects of Caffeine and Diet Composition. *Appetite*, 55: 528-533.
- Thorne, D. R. (2010). The identities hidden in the matching laws, and their uses. *Journal of the Experimental Analysis of Behavior*, 93: 247-260.

LA COHERENCIA EN EL DESARROLLO HUMANO Y LA SALUD INTEGRAL



THE COHERENCE IN THE HUMAN DEVELOPMENT AND INTEGRAL HEALTH

Rocío M. Uresti-Marín*, Frida Caballero-Rico, Manuel Vázquez-Vázquez, José A. Ramírez

Centro de Excelencia, Dirección General de Innovación Tecnológica,
Universidad Autónoma de Tamaulipas, Centro Universitario Adolfo López Mateos S/N,
Ciudad Victoria, Tamaulipas, México, C.P. 87149.
*Autor para correspondencia: ruresti@uat.edu.mx

Fecha de recepción: 14 de junio de 2013 / Fecha de aceptación: 3 de septiembre de 2013.

RESUMEN

Alcanzar la salud integral, es el principal reto del ser humano para mantener una óptima calidad de vida. Lograr la salud integral requiere del desarrollo coherente del individuo, y para ello deberá prestar atención a todos los aspectos de su vida: físicos (cuerpo), mentales, emocionales (alma) y espirituales. El desarrollo humano coherente en todas estas áreas, contribuye a crear una sociedad más sana. Numerosos estudios han encontrado que las personas sometidas a cambios familiares, sociales y culturales caracterizadas por rupturas emocionales y desorganización social o inestabilidad, están en mayor riesgo de contraer diferentes tipos de enfermedades emocionales y mentales que repercuten en la salud corporal. Para alcanzar la salud integral, se requiere un desarrollo ordenado y coherente a través de las diferentes etapas que integran la vida del individuo y atendiendo sus diferentes áreas de desarrollo. También se requiere el apoyo del núcleo familiar y una correcta alimentación para cada uno de los elementos que integran el ser. En este artículo se realizó una revisión sobre los avances

científicos relacionados con la coherencia en el desarrollo integral y la salud.

PALABRAS CLAVE: Coherencia, desarrollo humano, salud integral.

ABSTRACT

Reaching integral health is the main challenge in the development of human beings to maintain a high quality of life. Attaining integral health requires paying attention to all aspects of life: physical (body), mental, emotional (soul), and spiritual. Coherent human development in all these areas contributes to create a healthier society. As numerous studies have found, those subjected to family changes, social and cultural ruptures characterized by emotional instability and social disorganization, are at greater risk of different types of emotional and mental illnesses that affect physical health. To achieve integrated health, an orderly and coherent development is required in the different stages of the life of an individual, catering different development areas. Family support and appropriate food for each area are also required. This

article reviews scientific advances related to coherence in integral development and health care.

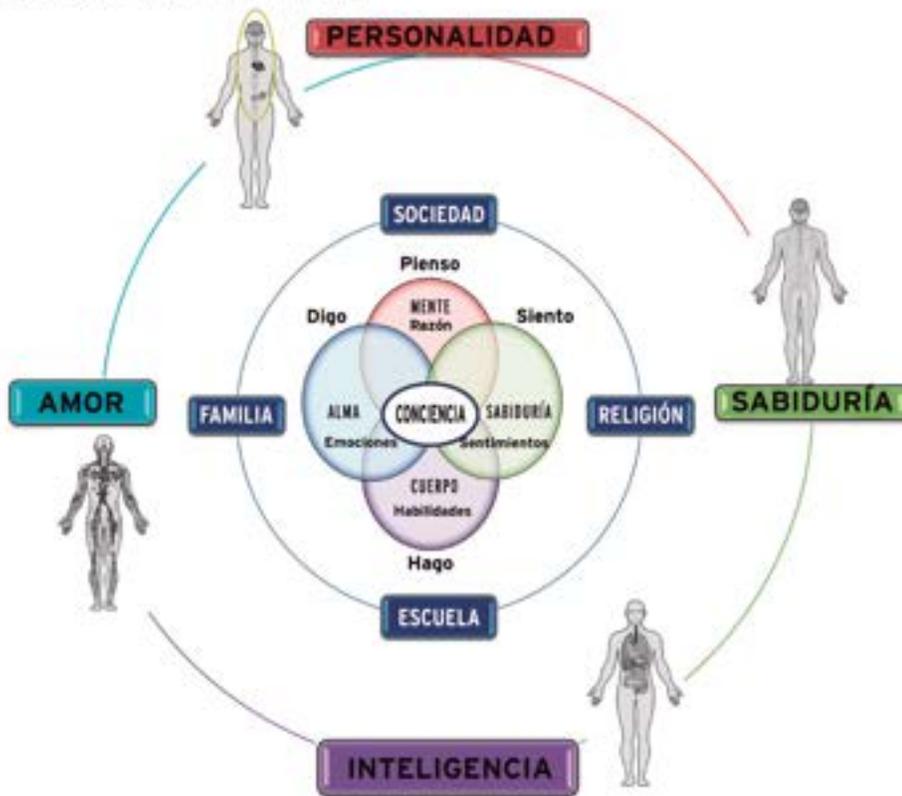
KEYWORDS: Coherence, human development, integral health.

INTRODUCCIÓN

El correcto funcionamiento de cualquier sistema depende de la existencia de una coherencia global, esta premisa también aplica en la vida de los seres humanos, porque permite la correcta sincronización entre sus cuatro áreas integrales: cuerpo, alma, espíritu y mente (Figura 1). El término vida (latín: *viŕa*), implica las capacidades de nacer, crecer, madurar, reproducirse y morir, como el ciclo vital de todo organismo vivo; sin embargo, en el ser humano, son cuatro áreas las que pasan por este proceso y están interconectadas entre sí, y cada área tiene relación con las respuestas de los procesos fisiológicos, ya que determinan la calidad y estabilidad de los sentimientos y las emociones del ser humano. Los sentimientos positivos, reflejan estados corporales donde los procesos se vuelven eficientes, óptimos, fáciles y fluidos

Figura 1.

Coherencia entre los elementos que integran al ser humano.
Figure 1. Coherence in elements of human.



(Damasio, 2003). El estado coherente personal en las cuatro áreas, se ha asociado con una sensación general de bienestar y mejora en el rendimiento, dentro de un entorno positivo. Se ha observado esta asociación entre las emociones y los patrones del ritmo cardíaco en los estudios realizados en laboratorio y en entornos naturales, y en emociones espontáneas y generadas intencionalmente. En el nivel afectivo, el estado de coherencia se asocia con una mayor estabilidad emocional, una reducción en la percepción del estrés y de las emociones negativas, y un aumento en la duración de la experiencia de emociones positivas (McCraty y Childre, 2004). Por tal motivo, en este trabajo se hizo una revisión sobre los avances científicos relacionados con la coherencia entre la salud integral y el desarrollo integral.

La Coherencia

La real academia de la lengua española define la coherencia (del latín *cohaerentia*), como la conexión, relación o unión de unas cosas con otras. Entre las diferentes

perspectivas científicas que surgieron a partir del siglo XX, una de las más importantes quizá es la que sostiene que el universo se encuentra totalmente interconectado y es perdurablemente "coherente". Los sistemas complejos vivos, están compuestos por numerosas redes dinámicas interconectadas entre estructuras y procesos biológicos (Laszlo, 2003). La coherencia implica orden, estructura, armonía y alineamiento dentro y entre los sistemas, ya sea en los átomos, organismos, grupos sociales, planetas o galaxias. Así, cada conjunto tiene una relación y es una parte de un grupo más amplio, que a su vez es parte de otro grupo mayor. En este contexto, no puede ser considerado independiente o que carece de relación. En los sistemas vivos, existen sistemas de macro y micro-nivel, protones y electrones, compuestos y células, órganos y sistemas, cada uno funcionando de manera autónoma, haciendo cosas muy diferentes a ritmos diferentes, pero todos trabajando juntos de una manera compleja, armónicamente coordinada y sincronizada. Para que el cerebro

y el sistema nervioso funcionen, la actividad neuronal, que codifica la información, debe ser estable y coordinada, y los diferentes centros que forman el cerebro tienen que ser capaces de sincronizar dinámicamente su actividad con el fin de que la percepción y la información sea procesada sin problemas (McCraty, 2011).

La salud y la coherencia

El ser humano se esfuerza por mantener la salud y la armonía en su vida, y de forma intuitiva es consciente de las interconexiones que existen entre los procesos físicos y las palabras, emociones, sentimientos y pensamientos; realizando esfuerzos por mejorar la coherencia individual, familiar, social y global. La salud integral es el estado personal más importante que requiere alcanzar el ser humano y comprende aspectos interiores biológicos, psicológicos, espirituales y mentales, por lo que, la alimentación, el amor, la religión y la educación son los principales factores que influyen significativamente en el desarrollo humano.

La familia es la institución fundamental para la vida de toda sociedad, ya que es el ámbito privilegiado de cada individuo, donde nace, crece, se desarrolla y vive, de acuerdo a la cultura, nivel económico y sociedad. La comunidad y el ambiente forman parte intrínseca de la realidad de las personas. En el campo de la salud, la familia se constituye en la unidad básica, en la cual sus miembros "tienen el compromiso de nutrirse física, emocional, espiritual y mentalmente", por lo que es "la familia", a la que se debe dirigir la atención para mejorar la salud de la población del país (Smilkstein, 1984). El campo de interacción socioemocional entre los padres y sus hijos es esencial para el pleno desarrollo, ya que aprenden observando, imitando y recibiendo instrucciones.

La Organización Mundial de la Salud ha indicado que los niños que no viven con sus dos padres se vuelven, en la adolescencia, rebeldes, inestables, inseguros, infelices y deprimidos (WHO, 1997).

Actualmente existe una sociedad convulsionada por el caos, la falta de valores y los hogares disfuncionales. Es en este entorno

Tabla 1.

Etapas del desarrollo humano.

Table 1. Human development stages.

Pre-Natal	Es la etapa que se desarrolla en el vientre materno, desde la concepción del nuevo ser, hasta su nacimiento. Se le denomina también de la vida intrauterina y pasa por tres periodos: zigótico, embrionario y fetal.
Infancia	Es la etapa comprendida entre el nacimiento y los seis años de edad. Aumenta el desarrollo integral (físico, emocional, espiritual y mental), y el aprendizaje es importante para el desarrollo cognoscitivo de las fases del pensamiento en la mente.
Niñez	A partir de esta edad emerge el "yo". Periodo de la vida humana que se sitúa entre los seis y 12 años o hasta la pubertad. En esta etapa se comienza la creación de la conciencia (reglas de vida). Estudios recientes muestran la importancia de la formación religiosa en el desarrollo humano y la salud integral (Mahoney, 2010).
Pre-adolescencia (pubertad)	Generalmente comienza en niñas entre los 9 ½ y 14 ½ años (comúnmente a los 10), y en los niños, entre 10 ½ y 16 años (regularmente entre 12 y 13), por lo general, dura dos años. Es una etapa crítica debido a los cambios biológicos, emocionales y mentales en esta transición.
Adolescencia	(Del lat. <i>adolescens</i>), se define como el periodo de transición única entre la infancia y la edad adulta que se caracteriza por numerosos cambios biológicos, psicológicos, neuronales, que requiere un proceso formativo en salud mental (Spear, 2007). Debido al amplio desarrollo, se ha dividido en etapas: temprana (edades: 10-14 años) media, (15 a 17 años), y tardía (18-25 años) (Arnett, 2000); con los cambios físicos, hormonales y conductuales específicos asociados con cada fase (Feldman & Elliot, 1990).
Juventud	(Del lat. <i>juventus</i> , - <i>utis</i>). Se refiere a la etapa tardía de la adolescencia, que va de los 18 a los 25 años. Se llega al término del desarrollo biológico y se comienza el desarrollo profesional, continúa el desarrollo mental. Predomina el proceso individual, se asumen roles sociales, ideas concretas sobre valores, familia, religión y educación.
Adulthood	Comienza entre los 25 años y termina a los 45 años aproximadamente. Aquí, el individuo normalmente alcanza la plenitud de su desarrollo psicológico y mental, se consolida el periodo del carácter, personalidad y profesión, así como de los valores religiosos y su identidad sexual. Se tiene la capacidad de formar una familia, generar vida nueva y dar continuidad a la especie, también se tiene la capacidad de generar bienes culturales y sociales en ciencia y tecnología, asumidos en valores universales y trascendentales (Papalia y col., 2008).
Madurez	Comienza alrededor de los 45 años con el periodo del climaterio, en hombres y mujeres, con cambios fisiológicos, hormonales, psicológicos y neurológicos, se alcanza la plenitud de las capacidades cerebrales (razonamiento, memoria y consciencia) (Singh-Manoux y col., 2012). Es la transición entre la vida carnal y la vida espiritual, ya que comienza un descenso en la capacidad reproductiva, tanto de hombres como de mujeres, con la menopausia y andropausia, con la disminución hormonal de estrógenos y andrógenos (Harrison, 2011; Hess y col., 2012).

en donde se fomentan la deshonestidad, vicios, antivalores, individualismo y poca participación ciudadana (Gottman y col., 1996). La educación no es sólo un proceso escolar, la educación es el proceso de desarrollo en las cuatro partes del ser, y comienza en el seno familiar donde se crea la guía, los hábitos y las enseñanzas que servirán de sustrato para edades posteriores de la vida, en donde los padres se comprometen a entregar a

la sociedad hijos como individuos de bien. Dentro de un núcleo familiar favorable, se adquieren estilos de vida saludables, se crea una sociedad más sana, se previenen vicios, enfermedades crónicas y trastornos alimenticios provocados por problemas emocionales (Sheffield y col., 2007).

El desarrollo humano integral
El desarrollo integral del ser humano debe

ser sistemático: coherente, organizado y adaptativo, en cuerpo, alma, espíritu y mente, para hacer frente a las condiciones de vida interior y externas de la existencia. El crecimiento y desarrollo de los seres humanos abarca diferentes etapas en las que existen cambios previsibles a lo largo de la vida (Tabla 1). Es por ello, que el estudio del desarrollo humano requiere un enfoque multidisciplinario, que permita analizar los aspectos del desarrollo y los procesos de cambio en cada etapa de la vida. Esta complejidad en el proceso, obliga a buscar la educación integral de los individuos para el pleno conocimiento de la forma adecuada de vivir la vida y alcanzar la plenitud humana, para una apropiada integración en la sociedad, creando una conciencia integral.

Desarrollo corporal

El cuerpo físico requiere una nutrición balanceada para un desarrollo óptimo. La nutrición incluye un conjunto de procesos mediante los cuales el organismo incorpora, transforma y utiliza los nutrientes contenidos en los alimentos. Dada la complejidad de todo el proceso alimentario, la cantidad de alteraciones que se pueden producir es amplia. Se requiere llevar a cabo un soporte nutricional adecuado para mantener un peso corporal ideal y evitar un déficit de nutrientes (Dube y col., 2010). La ingesta de alimentos y el gasto energético son controlados por sistemas neuronales complejos, redundantes y distribuidos, que reflejan la importancia biológica fundamental del suministro adecuado de nutrientes y el balance energético (Figura 2). Se han hecho grandes progresos en la identificación de los diversos mecanismos hormonales y neuronales, mediante los cuales, el cerebro se informa a sí mismo, acerca de la disponibilidad de nutrientes ingeridos y almacenados que a su vez, le permite generar conductas autonómicas y salidas endócrinas para regularlos. A esta función se le denomina homeostasis y esta regulada por el hipotálamo y el tallo caudal dentro del cerebro. En tanto que algunas áreas de la corteza cerebral y el sistema límbico son importantes para el procesamiento de información de la experiencia previa a la alimentación, como recompensa, emociones, así como el contexto social y ambiental (Berthoud y Morrison, 2008).

Desarrollo del Alma

El alma puede definirse de acuerdo con la Real Academia Española, como el principio que da vida al ser humano y tiene una profunda connotación religiosa en diferentes culturas, considerándose la parte inmortal del ser humano. El alma se alimenta de las emociones y sentimientos, y se considera que el alimento que la nutre correctamente, es el amor, y que el órgano que la contiene y rige, es el corazón. Aristóteles afirma que al igual que el mundo tiene un punto central, también el hombre lo tiene y este es el corazón. Sin embargo, el pensamiento occidental y las ciencias humanistas y filosóficas solo hablan de dualismo cuerpo y mente, sin considerar que existe un espíritu, que tiene estrecha relación con el alma y que se debe aprender a diferenciar. Es importante preservar este aspecto espiritual y religioso en el estudio y desarrollo del alma, por encima de los conceptos científicos y psicológicos, para poder ayudar al ser humano en su desarrollo integral y coherente (Ángel, 2012).

El amor según la Real Academia Española, es un sentimiento intenso del ser humano hacia otra persona u otro ser, que nace de la propia insuficiencia del individuo y que busca el encuentro y unión con otro ser, procurando reciprocidad. En la religión católica el amor es un espíritu (1 Juan 4, 8). Siendo el amor un espíritu, es difícil describirlo con base a las emociones que despierta en el individuo, pero puede ser descrito con base en las actitudes que se desarrollan en las personas que lo experimentan. Una de estas definiciones descriptivas más aceptadas es quizá la que describe el apóstol Pablo en su carta a los corintios en el Nuevo Testamento (1 Corintios 13, 4-7): el amor es paciente, es bondadoso; el amor no tiene envidia; el amor no es jactancioso, no es arrogante; no se porta indecorosamente; no busca lo suyo, no se irrita, no toma en cuenta el mal recibido; no se regocija de la injusticia, sino que se alegra con la verdad; todo lo sufre, todo lo cree, todo lo espera, todo lo soporta. Este tipo de amor se denomina ágape en el idioma griego y está relacionado con el amor espiritual, el amor pleno entre personas, pero principalmente el amor entre Dios y el hombre (Castro, 2008).

Las palabras griegas que describen los sentimientos de amor son: ágape, fileo, storge, y eros; están relacionadas con actos

de caridad, amistad, afecto y romance respectivamente (Lewis, 2006).

Los sentimientos de amor y odio alteran la coherencia psicofisiológica del individuo, y con ello, su conciencia y la forma en como se vincula con el mundo. Los sentimientos negativos, como la ira o la frustración, están asociados con un desordenado e incoherente patrón en el ritmo cardíaco. En contraste, sentimientos positivos como el amor o el aprecio, están asociados con un suave, ordenado y coherente patrón en la actividad del ritmo cardíaco. Por otra parte, las mujeres son más expresivas emocionalmente que los hombres; y los hombres y las mujeres difieren en las experiencias y expresiones de emociones específicas (Kring y Gordon, 1998).

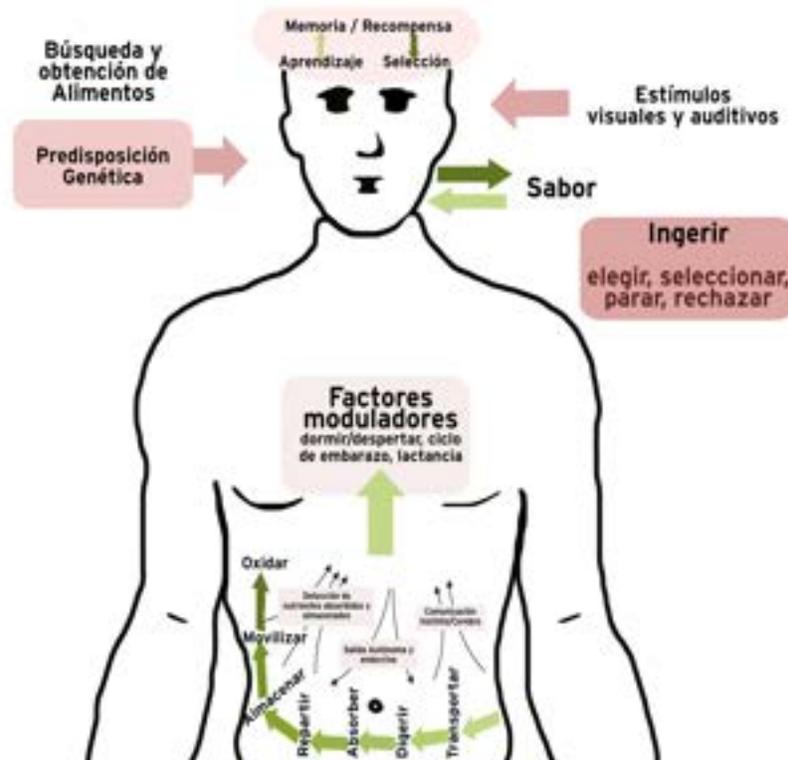
Desarrollo Espiritual

La vida de todo ser humano necesita ser gobernada por su espíritu, y muchos desconocen, que hay que desarrollar un espíritu puro interior (Zacarías 12, 1), el apóstol Pablo explica que las capacidades mentales

humanas se deben al espíritu, (1 Corintios 2, 11). Existen siete espíritus fundamentales que cada persona con voluntad, debe obtener: espíritu del Señor, sabiduría, inteligencia, consejo, fortaleza, ciencia y temor de Dios (Isaías 11, 2). Por medio de la bondad, justicia y verdad (Efesios 5, 9), se puede llegar al pleno conocimiento del misterio de Dios (Colosenses 2, 2), dando como fruto espiritual: amor, gozo, paz, paciencia, benignidad, bondad, fidelidad, mansedumbre y dominio propio (Gálatas 5, 23). Cuando uno se hace un espíritu con Dios (1 Corintios 6, 17), nace espiritualmente. Este conocimiento basado en la biblia católica y sustentado con el Catecismo de la Iglesia Católica (2012), muestra un conocimiento más elevado sobre la vida espiritual del ser humano y su relación con Dios. La esperanza de vida cada vez aumenta en las sociedades modernas y, si bien es cierto, que la medicina moderna ha contribuido a aumentar la longevidad, ha disminuido la calidad de vida, ya que las mayores afectaciones a la salud son las enfermedades crónicas, cáncer y

Figura 2.

Factores y mecanismos que determinan el control de la conducta ingestiva y el balance energético.
Figure 2. Factors and mechanisms determining control ingestive behavior and energy balance.



enfermedades mentales. La religión Católica siempre se ha considerado la heredera espiritual de la Iglesia original de Jesucristo, porque nace con los apóstoles y a los discípulos se les llamó cristianos por primera vez en Antioquía (Hechos 11, 26), y defiende a la familia, fundada sobre el matrimonio, elevado por Cristo a la altísima dignidad de sacramento, lo cual constituye un «patrimonio de la humanidad», por ser una institución social básica, que compromete más intensamente a los esposos, en cuidar y educar a los hijos (Langa, 2006). Por lo que, vivir por fe una vida espiritual coherente, con los roles propios de la edad, cumpliendo los mandamientos, valores, dogmas, ritos, y prácticas de la religión católica, crea una buena conciencia, con la que se sostiene la salud y una mejor calidad de vida.

En los últimos 20 años se han realizado diversos estudios científicos que documentan la relación existente entre la religión y la salud mental, mostrando una asociación positiva entre la participación religiosa y la salud física y mental (Koenig, 1998; Koenig 2001; Bonelli y Koenig, 2013). Entre los principales hallazgos destaca el hecho, de que en las personas que tienen alguna participación religiosa, existen menores tasas de depresión e incidencia de suicidio, así como una mayor moderación de la impulsividad, la agresión y el abuso

de sustancias (Krause, 1998; Koenig, 2009). Varios estudios realizados en comunidades religiosas cristianas han mostrado riesgos significativamente más bajos para ciertos tipos de cáncer entre sus miembros, que en la población en general, siendo el factor más importante el estilo de vida saludable inherente a la práctica religiosa en estas comunidades. Se ha documentado que las mujeres con firmes creencias religiosas y espirituales, así como aquellas que practican la oración, tienen una mejor actitud para enfrentar el cáncer de pecho, mejorar su calidad de vida durante los tratamientos de quimioterapia; y los pacientes que han sobrevivido a este tipo de cáncer muestran un mejor estado psicológico (Schreiber y Brockopp, 2012; Paiva y col., 2013). También existen estudios con adolescentes y adultos, que muestran asociaciones positivas entre la oración, la salud mental y la actitud para afrontar enfermedades (Bamford y Lagattuta, 2010).

Los avances en el estudio del cerebro han permitido comprender cómo procesa el cerebro humano el concepto de Dios. En la Tabla 2 se muestra la relación entre las estructuras y circuitos neuronales que se asocian con la conceptualización de Dios a partir de la primera infancia, partiendo desde una combinación de ideas, imágenes, sentimientos, sensaciones, hasta el establecimiento de la relación con el

propio ser y con otras personas (Newberg y Waldman, 2009). Este efecto benéfico se considera por una parte asociado al efecto placebo (la capacidad que tiene un organismo de curarse a sí mismo cuando tiene fe de que así será), pero la creencia religiosa, la espiritualidad y la oración han mostrado un efecto superior al efecto placebo (Kharitonov, 2012).

En la religión católica se establece que el ser humano interacciona con el mundo a través del cuerpo, que es el que permite experimentar las sensaciones del mundo, el alma es quien permite ser conscientes de uno mismo, el espíritu que permite ser conscientes de Dios y la mente que es el Templo de Dios, donde reside toda palabra. En este contexto, los seres humanos luchan constantemente entre dejar que el cuerpo, el alma o el espíritu dominen al ser afectando su estabilidad mental, emocional y salud. Por señalar algunos ejemplos simples, la ira y el odio están asociados con hipertensión arterial; la falta de fe o temor suele asociarse con enfermedades como diabetes; el rencor profundo o falta de perdón se asocia con depresión y trastornos psicológicos (Koenig y Cohen, 2002).

Las personas que a través de su fe logran que su alma (conciencia de sí mismo) sea sometida por su espíritu puro (conciencia de Dios), se denominan personas espirituales. Las personas con una vida

Tabla 2.

Circuitos cerebrales asociados a la fe en Dios.
Table 2. Brain circuits associated with faith in God.

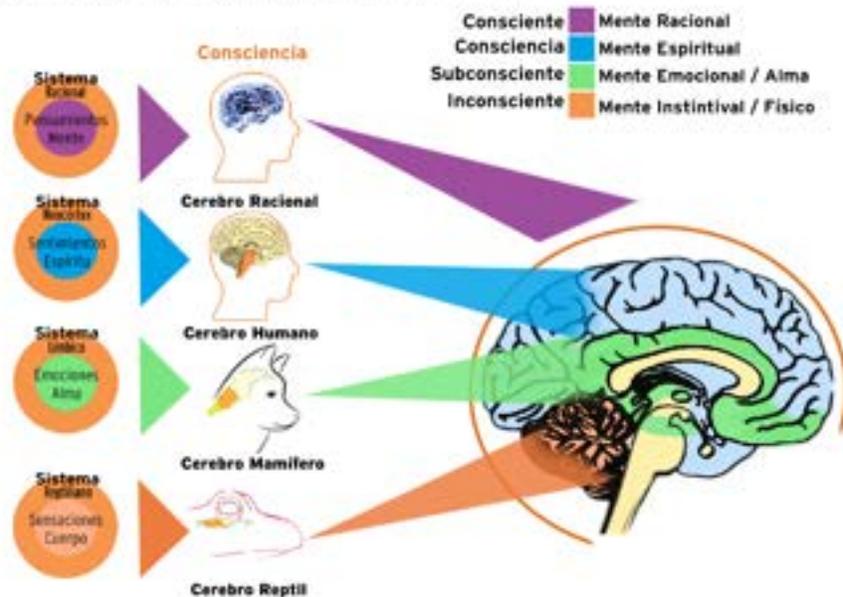
Círculo parietal occipital	Identifica a Dios como un objeto que existe en el mundo. Los niños pequeños ven a Dios como una cara, porque sus cerebros no pueden procesar conceptos abstractos y espirituales.
Circuitos frontales parietales	Se establece una relación entre los dos objetos conocidos como tú y Dios. Se coloca a Dios en el espacio mental, y permite conectarse con su espíritu. Se disminuye la actividad en el lóbulo parietal a través de la meditación o la oración intensa, los límites entre tú y Dios se disuelven. Se siente un sentido de unidad con el objeto de la contemplación y de presencia espiritual.
Lóbulo frontal	Crea e integra todas sus ideas acerca de Dios (positivas o negativas) como la lógica que se utiliza para evaluar sus creencias religiosas y espirituales. Se predice su futuro en la relación de Dios y trata de responder intelectualmente a todas las preguntas del por qué, qué y dónde, planteadas por los asuntos espirituales.
Tálamo	Da significado emocional a sus conceptos de Dios. El tálamo le da un sentido holístico del mundo y parece ser el órgano clave que hace que Dios se sienta objetivamente real.
Amígdala	Cuando se sobre estimula, la amígdala crea la impresión emocional de un Dios temible, autoritario y punitivo, y se suprime la capacidad de los lóbulos frontales de pensar con lógica de Dios.

Fuente: Newberg y Waldman, 2009.

Figura 3.

Sistemas cerebrales y su relación con cada parte del ser.

Figure 3. Brain systems and their relation to each part of the self.



basada en prácticas religiosas católicas, son manifiestamente más tranquilas, positivas y caritativas. Es precisamente esta fortaleza espiritual la que identifican los estudios médicos como una fortaleza asociada a la salud (Jeeves y Brown, 2009).

Desarrollo Mental

El cerebro es un órgano especializado en operar información, y en ello radican las actividades mentales, incluida la conciencia. La teoría de la función cerebral expresada por Nicholls y col. (2001), usa cinco principios básicos que son: 1. El cerebro usa señales eléctricas para procesar la información; 2. Las señales eléctricas son idénticas en todas las neuronas; 3. Las señales constituyen códigos de decodificación y representación; 4. El origen y destino de las fibras determina el contenido de la información; 5. El significado de las señales está en las interconexiones. Los mensajes son la base física de aprendizaje y memoria (Li y Sheng, 2003). La mente integra diversas facultades del cerebro que permite reunir información, razonar y extraer conclusiones.

La enfermedad mental puede tener un impacto directo o indirecto en la salud física, mediante el debilitamiento y/o la alteración de la respuesta inmune. Los trastornos mentales, como la depresión pueden llevar a la enfermedad física; existe amplia evidencia que sugiere que el estrés puede conducir a la disminución de la función inmunológica (Aaron, 2008). MacLean (1972), llamó cerebro trino a la evolución del cerebro en una secuencia de tres distintas y relacionadas estructuras, planteó que el cerebro está conformado por tres sistemas interconectados (reptiliano, límbico, neocorteza), dividido en dos hemisferios y que cada uno tiene una acción o inteligencia específica, y que están relacionadas en función del proceso de evolución en las capacidades cerebrales, y cada una tiene relación con cada parte esencial del ser y con sus funciones corporales, emocionales, espirituales, y mentales específicas (Figura 3).

La mente se divide en cuatro partes: La mente inconsciente, que es la más primitiva de todas, es la encargada de gestionar cuestiones fisiológicas tales como la

respiración; es una mente reactiva y cuyos patrones de acción están determinados por situaciones y vivencias milenarias. La mente subconsciente por su parte, es la mente emocional, es aquella que se deja llevar por los deseos del corazón. La mente consciente, es la más conocida de todas, es en la que se desarrolla directamente la razón e inteligencia (Ascoli y Samsonovich, 2008), y la mente espiritual donde reside el juicio o la conciencia del conocimiento del bien y del mal. La conciencia es el sagrario del hombre, donde está la ley de Dios que advierte de amar y practicar el bien y evitar el mal. Las experiencias sensoriales, emocionales y espirituales crean redes mentales que se llevan a cabo en ciertas etapas de la vida:

- El primer crecimiento de conexiones nerviosas tiene lugar entre los 2 y 5 años, un periodo en el que prospera la representación y el lenguaje.

- Otro gran desarrollo se da entre los 8 y 10 años, etapa de adquisición de conocimiento de contenido escolar.

- El tercer gran aumento, sobre todo en áreas centrales y posteriores corticales, se lleva a cabo alrededor de la adolescencia, y tiene que ver con el pensamiento lógico-abstracto.

El desarrollo de la mente también requiere información nutritiva que permita

desarrollar las capacidades cognoscitivas y mantener el cuerpo, el alma, y el espíritu saludables. Si la información hedónica (que identifica el bien con el placer), toma control del individuo, se caerá en vicios y deseos placenteros que enfermarán el organismo, creando redes sinápticas que son muy difíciles de erradicar, y se asocian con hábitos de vida poco saludables. Se debe desarrollar la voluntad para sujetar la demanda de placer innecesario del cuerpo físico, desarrollando estilos de vida saludables.

La práctica religiosa permite al hombre controlar sus deseos e impulsos carnales, evitando la gula, la pereza, el odio, los placeres carnales sin control, todos ellos reconocidos factores de riesgo para diferentes enfermedades. En el libro "Handbook in religion and mental health" hay un extenso análisis sobre la religión y la salud mental, que señala la importancia de practicar la religión y tener fe en procesos de enfermedad (Koeing y col., 2001).

CONCLUSIONES

El ser humano está integrado por cuatro elementos que le dan vida: cuerpo, alma, espíritu y mente, y los cuatro elementos están interconectados, es por ello que para mantener la salud integral se requiere coherencia. Sin embargo, no es posible

alcanzar la salud integral si el individuo no obtiene el alimento y los nutrientes que requiere cada uno de estos elementos a través del amor, las reglas de vida, y educación en la familia, la sociedad, la religión y la escuela. Cuando no se cuenta con un modelo de familia, ni de sociedad, ni de valores, el ejemplo que se debe seguir es el de Jesucristo. El desarrollo de cada área

personal tiene diferentes etapas, que hay que vivir de acuerdo a la edad, y es en el desarrollo de la mente sana donde se crea por medio del conocimiento la personalidad de cada individuo, con su lenguaje, comunicación, respuesta y metas en la vida, y es la religión católica la que invita a vivir con honestidad y rectitud. Sin embargo, se requiere esfuerzo, fe y esperanza para lograrlo, y voluntad para

avanzar por una vida más plena y rechazar todo vicio o estilos de vida sin valores morales y éticos que puedan interferir en la conciencia y ocasionar enfermedades. ||

AGRADECIMIENTO

Al fondo Mixto de Tamaulipas por el apoyo brindado en la convocatoria 2011 - C33 al proyecto con clave 187942.

REFERENCIAS

- Angel, M. D. (2012). *Mainmónides essential teachings on Jewish faith and ethics. The book of the knowledge the thirteen principles of faith annotated & explained*. Jewish Lights Publishing. 177 Pp.
- Aaron, G. A., Monn, A. R., Leslie, L. K., Garland, A. F., Lugo, L., Hough, R. H., and Brown, S. A. (2008). Association between mental and physical health problems in high-risk adolescents: A longitudinal Study. *Journal of Adolescents Health* 43: 260-267.
- Ascoli, G. A. and Samsonovich, A. V. (2008). Science of the Conscious Mind. *Biology Bulletin* 204-215.
- Arnett, J. J. (2000). Emerging adulthood. A theory of development from the late teens through the twenties. *American Psychologist* 55(5): 469-480.
- Barnford, Ch. and Lagattuta, K. H. (2010). A New Look at Children's Understanding of Mind and Emotion: The Case of Prayer. *Developmental Psychology* 46(1): 78-92.
- Berthoud, H. R. and Morrison, Ch. (2008). The Brain, Appetite and obesity. *The Annual Review of Psychology* 59:55-92
- Bonelli, R. M. and Koenig, H. G. (2013). Mental Disorders, Religion and Spirituality 1990 to 2010: A Systematic Evidence-Based Review. *Journal Religion Health* 52: 657-673.
- Castro, L. B. (2008). El amor como concepto filosófico y práctica de vida, entrevista con Edgar Morales. *Revista Digital Universitaria*. [En línea]. Disponible en: <http://www.revista.unam.mx/vol.9/num11/art92/int92.htm>. Fecha de consulta: 15 de mayo de 2013.
- Damasio, A. (2003). *Looking for Spinoza: Joy, Sorrow, and the feeling Brain*. Orlando: Harcourt. 268 Pp.
- Dube, L., Bechara, A., Dagher, A., Drewnowski, A., LeBel, J., James, P., and Yada, R. Y. (2010). Obesity Prevention, The role of brain and Society on individual behavior. *Academic Press*. 801 Pp.
- Feldman, S. S. and Elliot, G. R. (1990). *At the threshold: The developing adolescent*. Cambridge, MA: Harvard University Press. 642 Pp.
- Gottman, J. M., Katz, L. F., and Hooven C. (1996). Parental Meta-Emotion Philosophy and the Emotional Life of Families: Theoretical Models and Preliminary Data. *Journal of Family Psychology* 10(3): 243-268
- Harrison, J. (2011). Talking about my generation: a state-of-the-art review of health information for men in the andropause. *Health Information and Libraries Journal* 28:161-170.
- Hess, R., Thurston, R. C., Hays, R. D., Chang, Ch. H., Dillon, S. N., Ness, R. B., Bryce C. L., Kapoor, W. N., and Matthews, K. A. (2012). The impact of menopause on health-related quality of life: results from the STRIDE longitudinal study. *Quality of Life Research* 21(3): 535-544.
- Jevees, M. and Brown W. S. (2009). *Neuroscience Psychology and Religion: Illusions, delusions and realities about Human Nature*. Templeton Science and Religion Series. 153 Pp.
- Kharitonov, S. A. (2012). Religious and Spiritual Biomarkers in Both Health and Disease. *Religions* 3 (2): 467-497.
- Koenig, H. G. (1998). Religion and Mental Health from the catholic perspective. *Handbook of religion and mental health*. *Academic Press*. 142-111-223.
- Koenig, H. G. and Cohen, H. J. (2002). *The link between religion and health Psychoneuroimmunology and faith factor*. New York: Oxford Press. 304 Pp.
- Koenig, H. G., McCullough, M. E., and Larson, D. B. (2001). *Handbook of religion and health*. New York: Oxford Press. 712 Pp.
- Koenig, H. G. (2009). Research on religion, spirituality, and mental health: a review. *Canadian Journal of Psychiatry* 54(5): 283-291
- Krause, N. (1998). Stressors in highly valued roles, religious coping and mortality. *Psychology and Aging* 13: 242-255.
- Kring, A. M. and Gordon, A. H. (1998). Sex differences in emotion: Expression, experience, and physiology. *Journal of Personality and Social Psychology* 74: 686-703
- Langa, A. P. (2006) El fundamento del matrimonio en la familia según San Agustín. *Religión y Cultura LII*: 713-746
- Laszlo, E. (2003). *The Connectivity Hypothesis. Foundations of an Integral Science of Quantum, Cosmos, Life, and consciousness*. State University of New York Press, Albany. 143 Pp.
- Li, Z. and Sheng, M. (2003). Some assembly required: the development of neuronal synapses. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 4:833-841.
- Lewis, C. S. (2006). *Los cuatro amores*. Harper Collins Publishers. 155 Pp.
- Mahoney, A. (2010). Religion in Families, 1999-2009: A Relational Spirituality Framework. *Journal of Marriage and Family* 72: 805-827.
- McCarty, R. (2013). Coherence: bridging personal, social and global health. *Activa Nervosa Superior Rediviva* 53 (3): 86-102.
- McCarty, R. and Childre, D. (2004). *The grateful heart: The psychophysiology of appreciation. The psychology of gratitude*. New York: Oxford University Press. 255 Pp.
- MacLean, P. D. (1972). Cerebral evolution and emotional processes: New findings on the striatal complex. *Annals of the New York Academy of Sciences* 193:137-149.
- Newberg, A. and Waldman, M. R. (2009). *How God changes your brain, breakthrough findings from a leading neuroscientist*. Ballantine Books. 335 Pp.
- Nicholls, J. G., Martin A. R., Wallace, B. G., and Fuchs, P. A. (2001). *From neuron to Brain. Fourth edition*. Sinauer Associates Inc. 575 Pp.
- Paiva, C. E., Paiva, B. S. R., de Castro, R. A., de Pádua Souza, C., de Paiva-Maia, Y. C., Ayres, J. A., and Michelin, O. C. (2013). A pilot study addressing the impact of religious practice on quality of life of breast cancer patients during chemotherapy. *Journal of Religion and Health* 52(1): 184-193.
- Papalia, D. E., Wendkos, O. S., and Duskin, F. R. (2008). *About Human development*. Book Human Development. McGraw Hill. 667 Pp.
- Schreiber, J. A. and Brockopp, D. Y. (2012). Twenty-five years later—what do we know about religion/spirituality and psychological well-being among breast cancer survivors? A systematic review. *Journal of Cancer Survivorship* 6(1): 82-94.
- Sheffield, A. M., Seda, J. S., Steinberg, L., Myers, S. S., and Robinson L. R. (2007). The Role of the Family Context in the Development of Emotion Regulation. *Social development* 16(2): 361-388.
- Singh-Manoux, A., Kivimaki, M., Glymour, M. M., Elbaz, A., Berr, C., Elmeier, K. P., Ferrie, J. E., and Dugravot, A. (2012). Timing of onset of cognitive decline: results from Whitehall II prospective cohort study. *British Medical Journal* 344: 1-8
- Smilkstein, G. (1984). The Physician and Family Function Assessment. *Fam. Systems Medical*. 2:263-278
- Spear, L. P. (2007). The psychobiology of adolescence. Authoritative communities: The scientific case for nurturing the child. The Search Institute Series on Developmentally Attentive Community and Society. Springer. 263-280
- WHO (1997). Programmed on mental health. Improving mother/child interactions to promote better psychosocial development in children.



EVALUACIÓN DEL IMPACTO NUTRICIONAL Y LA ACEPTACIÓN ORGANOLÉPTICA DE GALLETAS ENRIQUECIDAS CON LACTOSUERO, SOYA Y NUEZ DE MACADAMIA EN PREESCOLARES DE UNA COMUNIDAD DE CHIAPAS, MÉXICO

EVALUATION OF THE NUTRITIONAL IMPACT AND THE ORGANOLEPTIC ACCEPTANCE OF ENRICHED COOKIES WITH WHEY, SOY AND MACADAMIA NUTS IN PRESCHOOL COMMUNITY OF CHIAPAS, MEXICO

Karla Berenice López-Villafuerte, Diana Xóchitl Cabrera-Martínez, Oscar Aarón Águilar-Nájera Wayne Sol-González, Erika Judith López-Zúñiga y Gilber Vela-Gutiérrez*

Facultad de Ciencias de la Nutrición y Alimentos de la Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas, Libramiento Norte Poniente Núm. 1150. Col. Lajas Maciel, Ciudad Universitaria, Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, México, CP. 29000.

*Autor para correspondencia: gilber.vela@unicach.mx

Fecha de recepción: 01 de abril de 2013 / Fecha de aceptación: 04 de noviembre de 2013.

RESUMEN

El lactosuero contiene 4.7 g de lactosa (su componente principal), seguido de las proteínas con una alta proporción de aminoácidos azufrados, lo que contribuye a una gran calidad nutricional. El objetivo del estudio fue evaluar el impacto nutricional y sensorial de una galleta elaborada a base de lactosuero, soya y nuez de macadamia en preescolares del estado de Chiapas, México. Inicialmente, se determinó el estado nutricional de los preescolares de un jardín de niños de la ciudad de Tuxtla Gutiérrez, Chiapas; posteriormente, los niños que manifestaron problemas

de desnutrición se alimentaron por un período de tres meses con una galleta elaborada a base de lactosuero, soya y nueces de macadamia. Se evaluaron cuatro formulaciones con aceptación sensorial al 95 % ($P < 0.05$), seleccionándose la de mayor grado de aceptación. A la mitad y al final del estudio se evaluó el estado nutricional de los preescolares. Mediante análisis químico proximal se determinó la composición nutricional de la galleta, así como el grado de aceptabilidad mediante una prueba de preferencia con jueces no entrenados. El 50 % del total de los niños alimentados mostraron mejoría en su

estado nutricional ($P < 0.05$). El análisis químico proximal de la galleta arrojó un 75.56 % de humedad, 0.27 % de cenizas, 0.84 % de grasas, 12.95 % de proteínas, 2.01 % de fibras y 8.37 % de hidratos de carbono. El alto grado de aceptabilidad y la mejora del estado nutricional de los niños alimentados, mostraron evidencias de la viabilidad de la galleta para ser consumida por niños con problemas de desnutrición en comunidades marginadas.

PALABRAS CLAVE: galleta, impacto nutricional, desnutrición, nuez de macadamia, lactosuero.

ABSTRACT

Whey contains 4.7 g of lactose (main component), followed by proteins with a high proportion of sulfur amino acids, which contribute to a high nutritional quality. The objective of this study was to assess the nutritional and sensory impact of enriched cookies with whey, soy, and macadamia nuts in preschool children from Chiapas, Mexico. Initially, we determined the nutritional status of children in a kindergarten from Tuxtla Gutiérrez, Chiapas. Later, the children who reported problems of undernutrition were fed for a period of three months with a cookie elaborated from whey, soy, and macadamia nuts. Four formulations were evaluated with sensorial acceptance of 95 % ($P < 0.05$), selecting the one with the greatest level of acceptance. At the middle and the end of the study, the nutritional status of the preschool children was evaluated. Proximal analysis determined the nutritional composition of the cookie, and the degree of acceptability by preference test with untrained judges. Fifty percent of total fed children showed improvement in their nutritional status ($P < 0.05$). Proximal analysis of the cookie showed a 75.56 % moisture, 0.27 % ash, 0.84 % fat, 12.95 % protein, 2.01 % fiber, and 8.37 % carbohydrates. The high degree of acceptability and the improvement in the nutritional status of the children fed revealed the viability of the cookie to be consumed by children suffering from malnutrition in underserved communities.

KEYWORDS: Cookies, nutritional impact, undernutrition, macadamia nuts, whey.

INTRODUCCIÓN

El suero de leche, también llamado lactosuero, es un subproducto de la elaboración de quesos y mantequillas (Vela y col., 2012). De acuerdo a la Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) (2005), la producción de lactosuero en México ha pasado

de 249 mil toneladas en 1961 a 709 mil toneladas en el año 2000. El lactosuero es un subproducto rico en proteínas, que en México, como sucede en otros países en desarrollo, no se aprovecha en forma eficiente (López y col., 2012). El suero de leche contiene hidratos de carbono en forma de lactosa o azúcar de leche; cien gramos de suero de leche líquida contienen 93.55 g de agua, 4.7 g de lactosa, 0.7 g de lípidos, 1.0 g de proteínas, 0.05 g de minerales (47 mg de calcio, 0.06 mg de hierro, 8 mg de magnesio, 46 mg de fósforo, 161 mg de potasio, 54 mg de sodio y 0.13 mg de zinc) y 2.065 mg de vitaminas (0.10 mg de ácido ascórbico, 0.036 mg de tiamina, 0.158 mg de riboflavina, 0.074 mg de niacina, 0.383 mg de ácido pantoténico, 0.031 mg de vitamina B6, 1 mg de Folacina, 0.277 mg de vitamina B12, 16 UI de vitamina A) (López y col., 2011; Villacís, 2011). La lactosa es el componente principal del lactosuero y la que le confiere sus propiedades más importantes. El papel biológico de las proteínas del lactosuero, tales como inmunoglobulinas, lactoferrina, lactoperoxidasa y lisozima, en un inicio se centró en la protección de los neonatos contra infecciones microbianas, pero ahora se reconoce que las proteínas de lactosuero son grupos heterólogos de biomoléculas multifuncionales que pueden ser utilizadas en beneficio de la salud humana (Korhonen, 2010). La composición de aminoácidos de proteínas del suero les confiere funcionalidad fisiológica muy especial: primeramente, porque contienen una alta proporción de aminoácidos azufrados, lo que contribuye a la calidad nutricional de estas proteínas. Su Razón de Eficiencia Proteínica (PER) es de 3.2, valor elevado, comparado con el 2.0 de las caseínas. Se considera que los aminoácidos azufrados aumentan la función inmune del organismo, por vía de la regulación del tripéptido azufrado glutathion, el cual interactúa con las membranas celulares de los microorganismos y les provoca la muerte (López y col., 2012).

Cada 100 g de soya contienen 40.0 g de

proteína, 20.0 g de grasa, 25.0 g de hidratos de carbono, 10.0 g de agua, 3.7 g de fibra, 240.0 mg de calcio, 11.5 mg de hierro, 0.73 mg de tiamina, 0.39 mg de riboflavina (De Luna, 2007; Singh y Singh, 1992). Aproximadamente de 1.5 a 2.5 % de la grasa presente en el grano se encuentra en forma de lecitina. Existen reportes médicos que indican que la lecitina puede tener ciertas propiedades curativas principalmente para enfermedades del sistema nervioso, cardiovascular y de los órganos que almacenan o transportan grasas en el cuerpo.

De acuerdo a datos de la FAO (2006), el fruto de la nuez de macadamia (*Macadamia integrifolia* y *Macadamia ternifolia*), es una nuez comestible con un alto contenido de grasas y proteínas. Es un árbol nativo de Australia oriental, y pertenece a la familia Protaceae. Cien gramos de la parte comestible contienen 2.88 g de agua, 13.73 g de hidratos de carbono, 73.72 g de grasas, 8.30 g de proteínas, 5.28 g de fibra, 1.36 g de cenizas, 70 mg de calcio, 368 mg de potasio, 136 mg de fósforo, 116 mg de magnesio, 2.41 mg de hierro, 0.35 mg de tiamina, 0.11 mg de riboflavina, 2.14 mg de Niacina (FAO, 2006). Su contenido en grasa saturada es relativamente bajo, debido a que más del 80 % corresponde a grasa monoinsaturada (valor aún mayor en un 75 % al presentado por el aceite de oliva). Existen reportes, como el de Garg y col. (2007), que indican que sus niveles de ácidos grasos monoinsaturados (AGMI) son mayores que cualquier otra fuente de alimentos que se conozca hasta la fecha (más de 60 g/100 g de nueces enteras comestibles). Curb y col. (2000), reportaron que una dieta alta en grasa monoinsaturada (a base de nuez de macadamia) y una dieta moderadamente baja en grasa tiene efectos potencialmente benéficos sobre los niveles de colesterol y las lipoproteínas de baja densidad cuando se comparan con una dieta americana típica. Los AGMI en la dieta promueven un perfil de lípidos insaturados en la sangre, controla la presión arterial, y modula favorablemente la sensibilidad

a la insulina y el control glucémico (Gillingham y col., 2011). Muchos de los componentes nutricionales de las nueces se han relacionado con efectos benéficos para la diabetes y condiciones relacionadas a la enfermedad; algunos estudios indican que el incremento de AGMI y ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) en la dieta mejoran la sensibilidad a la insulina (Lovejoy, 2005).

Según datos del Fondo de Naciones Unidas para la Infancia (UNICEF), en el 2010 se estimó que a nivel mundial un 10 % de niños y niñas menores de cinco años sufrió desnutrición aguda. A nivel mundial la malnutrición es responsable, directa o indirectamente, del 60 % (que equivale a 10.9 millones) de muertes que ocurren anualmente entre niños y niñas menores de 5 años. La insuficiencia nutricional también ha frenado el desarrollo de 178 millones de menores; principalmente en edad preescolar en los países en desarrollo. La desnutrición afecta a más de 55 millones de niñas y niños en edad preescolar anualmente (OMS, 2011). De acuerdo a datos de la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) (2006), en México la desnutrición en menores de cinco años continuaba siendo un problema de salud pública, aún cuando había avances, todavía persistían prevalencias muy altas de desnutrición entre los pobres. Los datos más recientes de la ENSANUT (2012), indican que en México la prevalencia de talla baja en menores de cinco años es de 11.1 y 20.9 % en el medio urbano y rural, respectivamente. En México, 2.8 % de menores de cinco años de edad presentan peso bajo y 1.6 % emaciación. En el 2006, Chiapas ocupó el segundo lugar en desnutrición en México, después de Guerrero; este padecimiento es la décima causa de muerte en el estado de Chiapas (ENSANUT, 2006). La misma encuesta nacional reportó, que de 118 municipios que conforman el estado, 60 de ellos presentaron desnutrición severa, 36 con importante grado de desnutrición, 13 con moderada y dos con desnutrición leve.

La desnutrición durante la niñez afecta el estado físico, mental, verbal y motor, causa talla baja y aumenta en la edad adulta el riesgo de enfermedades crónicas, disminuye además la calidad de vida y la productividad. El problema se concentra en las zonas de alta marginación y entre los indígenas, principalmente en los estados de Oaxaca, Chiapas, Guerrero y Yucatán en México (Valadez, 2010). La desnutrición infantil en México no es consecuencia de la escasa disponibilidad de alimentos en el hogar, ya que no es raro encontrar, en una misma familia, la coexistencia de preescolares desnutridos con adultos y escolares obesos; condición que se observa cada vez con mayor frecuencia en familias con bajo ingreso (López y col., 2012).

Generalmente las galletas que existen en el mercado, son formuladas de harina de trigo, grasa, azúcar y saborizantes, obteniendo un producto con alto contenido calórico, y reducido aporte proteínico. Normalmente, un niño en etapa preescolar debe consumir al menos 1,600 calorías, de las cuales el 50 % corresponde a hidratos de carbono, 31 % a lípidos y un 18 % a proteínas.

El objetivo del presente estudio fue evaluar el impacto nutricional y sensorial de una galleta elaborada a base de lactosuero, soya y nuez de macadamia en un grupo de preescolares del estado de Chiapas. Este estudio forma parte del proyecto Utilización del lactosuero para la elaboración de alimentos nutritivos y sensorialmente aceptables que se desarrolla desde el 2008 en la Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas, México.

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente estudio fue de tipo experimental de laboratorio y de campo, de acuerdo al tiempo de ejecución es de tipo longitudinal prospectivo, además de intervención, debido a que se complementó la dieta (tres meses) a un grupo de preescolares (3 y 5 años y nueve meses), quienes resultaron con problemas de desnutrición en el

primer diagnóstico nutricional realizado, y se dio seguimiento durante ese período.

Consideraciones bioéticas

Previo a la puesta en marcha, el presente estudio fue revisado por el Comité de Investigación, y validado posteriormente por el Comité de Bioética (FWA00017088), ambos de la Facultad de Ciencias de la Nutrición y Alimentos de la Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas. A cada uno de los padres de familia de los niños participantes se les explicó a detalle en que consistía el proyecto; posteriormente, firmaron el consentimiento informado, este y otros documentos confidenciales se mantienen bajo resguardo.

Población

Se conformó por 111 niños en edad preescolar inscritos en el jardín de niños "Juan Sabines Gutiérrez" de la colonia Chiapas Solidario, municipio de Tuxtla Gutiérrez, Chiapas México.

Muestreo y muestra

El muestreo fue a conveniencia, debido a que se realizó un diagnóstico nutricional previo a la intervención (complementación alimentaria), donde se obtuvieron 18 niños con problemas de desnutrición, estos conformaron la muestra (grupo en estudio); paralelamente se tomó un grupo de 15 niños que no presentaron problemas de malnutrición (grupo testigo), a quienes se les evaluó su estado nutricional durante el tiempo que duró el estudio.

Criterios de inclusión, exclusión y eliminación

Criterios de inclusión: Niños y niñas en edad preescolar (de 3 a 5 años y 11 meses de edad), inscritos en el jardín de niños "Juan Sabines Gutiérrez", y que contaron con la autorización del padre de familia o tutor (consentimiento informado firmado).

Criterios de exclusión: Niños que a pesar de la autorización del padre o tutor decidieron no participar, quienes previo al estudio presentaron alguna patología que impidió

su participación (intolerancia a derivados lácteos, a productos de soya y gluten, así como alergia al consumo de nueces).

Criterios de eliminación: Niños que se enfermaron durante el estudio, impidiéndoles continuar con el estudio y quienes cambiaron de residencia o de jardín de niños.

Elaboración de la galleta

Se obtuvo la harina de lactosuero de acuerdo a la metodología publicada por Galdámez y col. (2009), la harina de soya se obtuvo a partir de soya texturizada (obtenida en el mercado local de la ciudad de Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, México); ambas utilizadas en la elaboración de las galletas, tal y como se describe en la Tabla 1. Utilizando una batidora (Osterizer®, modelo 2614, México), se mezcló la mantequilla y el azúcar durante 10 minutos a una velocidad media. Posteriormente, se añadieron el resto de los componentes (harina de trigo, cocoa, polvo para hornear, sal, huevo, nuez de macadamia (*Macadamia integrifolia*) triturada, extracto de vainilla. Todos los ingredientes fueron mezclados manualmente (amasado), hasta lograr una masa homogénea, posteriormente se realizó el troquelado. El horneado se realizó a

120±2 °C durante 15 minutos. Finalmente, se empaquetaron y etiquetaron en bolsas de plástico (celofán) para su conservación, determinación química proximal y análisis sensorial.

Evaluación sensorial

Se realizó con un grupo de 50 niños en edad preescolar (3 a 5 años y nueve meses) (jueces no entrenados) del jardín de niños "Juan Sabines Gutiérrez" de la colonia "Chiapas Solidario" del municipio de Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, México. La evaluación fue de tipo descriptiva utilizando una boleta estructurada con una escala hedónica facial incluyendo las categorías: me gusta mucho, me gusta poco, ni me gusta ni me disgusta, me disgusta poco, me disgusta mucho. La prueba consistió en otorgarle a cada niño una muestra de cada tipo de galleta y se les entregó la hoja de respuesta, instruyéndoles que después de probar la galleta marcaran en la hoja de respuesta la cara que correspondía al nivel de agrado (Figura 1).

Análisis químico proximal

Se determinó el contenido de humedad, cenizas, grasa cruda, proteína cruda

y fibra cruda mediante el método de la Association of Official Analytical Chemists (AOAC) publicado en el 2003, así como el contenido de hidratos de carbono mediante diferencia del resto de los componentes (humedad, cenizas, grasa, proteína y fibra).

Evaluación nutricional

Inicialmente se realizó un diagnóstico nutricional al total de la población (n=111) y que cumplieron con los criterios de inclusión; en esta evaluación se determinó peso, talla, edad y sexo de los infantes (de acuerdo a la NOM-031-SSA2-1999), que sirvió para obtener el Índice de Masa Corporal (IMC), así como el indicador de peso para la talla (P/T), para su correlación con las Tablas de la National Survey of Children's Health (NSCH) y así poder diagnosticar el estado nutricional de los niños. Después, se eligieron dos grupos (grupo 1 y 2). El grupo 1 estuvo conformado por 18 niños, quienes manifestaron problemas de desnutrición; y el grupo 2 (testigo), fue constituido por 15 niños quienes no presentaban problemas de malnutrición.

Tabla 1.

Composición porcentual de cada formulación.

Table 1. Percentage composition for each treatment.

Ingredientes	Formulación 1	Formulación 2	Formulación 3	Formulación 4
Harina de suero de leche	10.20	20.41	10.75	10.59
Harina de soya	10.20	10.20	16.12	10.59
Harina de Trigo	30.61	20.40	26.68	31.77
Nuez de macadamia	5.10	5.10	5.37	4.23
Mantequilla	25.51	25.51	21.50	21.18
Azúcar	15.31	15.31	16.13	12.73
Cocoa	1.28	1.28	1.36	1.07
Vainilla	1.28	1.28	1.36	1.07
Huevo	---	---	---	6.35
Polvo para hornear	0.51	0.51	0.53	0.42

Al grupo 1, se le complementó la dieta con las galletas (dosis: 30 g por día por niño) que de acuerdo al análisis sensorial mostraron mayor grado de aceptabilidad, la alimentación se otorgó por un período de tres meses. El grupo 2, siguió una alimentación normal, observándose su comportamiento paralelamente al grupo 1. La galleta suministrada y el alimento ingerido diariamente cumplían con los requerimientos energético-proteicos necesarios de un desayuno para niños en edad preescolar. Durante el tiempo que se desarrolló el estudio, se impartieron pláticas sobre alimentación infantil, además de talleres culinarios y sobre higiene alimentaria. Al finalizar el período de alimentación, se realizó el segundo diagnóstico nutricional. Ambos diagnósticos nutricionales obtenidos, se compararon para determinar el efecto de la complementación alimentaria (galletas), sobre el estado nutricional de los infantes, tal y como se describe en la sección de análisis estadísticos de datos.

Análisis estadístico de los datos

Los resultados de la evaluación sensorial se analizaron mediante ji-cuadrada y estadística binomial para determinar el grado de aceptabilidad del producto; la comparación de los diagnósticos nutricionales se realizaron mediante análisis de varianza (ANOVA, $P < 0.05$), utilizando el software Minitab® versión 14.0 para windows.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Composición nutrimental de las galletas

El análisis químico proximal realizado a la galleta que se les proveyó a los preescolares, arrojó un contenido de humedad de 24.44 %, 0.27 % de cenizas, 0.84 % de grasas, 12.95 % de proteínas, 2.01 % de fibras y 59.49 % de hidratos de carbono. El contenido de proteína es relativamente alto, esto debido al uso de suero lácteo en la formulación; situación que permite elevar la calidad nutricional del producto desde el punto de vista

Figura 1.

Escala estructurada hedónica facial.

Figure 1. Facial hedonic scale.



de aminoácidos azufrados y péptidos bioactivos provenientes del lactosuero. La proteína del suero de leche constituye una rica fuente de dos aminoácidos: cisteína y metionina. Los aminoácidos sulfurados actúan como precursores del tripéptido denominado glutatión (GSH), el cual, por su parte, reduce los daños causados por la oxidación y, al mismo tiempo, mejora el funcionamiento del sistema inmunológico. Resultados similares fueron reportados por Benítez y col. (2008), al formular y evaluar un producto tipo galleta con base en harina de yuca y proteína plasmática bovina (suero sanguíneo) como alternativa alimentaria para la población. Varios estudios han demostrado, de forma consistente, que productos formulados con proteínas que contienen una proporción más elevada de proteína de suero de leche/caseína son más tolerados por el organismo, debido a su capacidad de pasar más rápidamente por el estómago. Esta propiedad tiene implicaciones significativas para situaciones de cuidados intensivos, en la que la disponibilidad de nutrientes en el intestino es de importancia vital para auxiliar en el proceso de

recuperación (López y col., 2012). La lactoferrina, otra de las proteínas de suero de leche, ha demostrado tener propiedades moduladores del sistema inmunológico mediante su acción microbiana y su efecto inhibitorio sobre la producción de toxinas por microorganismos (Vela, 2012). El alto contenido de proteínas y la presencia de hidratos de carbono, permiten obtener un alimento con características calórico-proteicas apto para personas con deficiencias nutricionales, tal es el caso de comunidades marginadas. Galdámez y col. (2009), presentaron resultados similares respecto al contenido de proteínas e hidratos de carbono, al elaborar tres tipos de galletas de harina de trigo, enriquecidas con harina de lactosuero, sensorialmente aceptables para un grupo de preescolares de la ciudad de Tuxtla Gutiérrez Chiapas. La presencia de nueces de macadamia en las galletas le confieren un valor adicional, debido al papel que se les ha atribuido en la modulación de los niveles de lípidos en plasma. Garg y col. (2007), reportaron que una dieta basada en nueces de macadamia es casi tan eficaz como una dieta moderadamente baja en

Tabla 2.

Resultados de la evaluación sensorial por cada tipo de galleta por nivel de agrado y número de jueces.

Table 2. Sensory evaluation results for each type of cookie by liking level and number of judges.

Parámetro	Formulación 1	Formulación 2	Formulación 3	Formulación 4
Agrado	41 ^a	34 ^a	40 ^a	44 ^a
Neutrales	5 ^b	9 ^b	8 ^b	4 ^b
Desagrado	4 ^c	7 ^c	2 ^c	2 ^c

Nota: Letras diferentes en la misma fila indican diferencias estadísticas significativas (ji-cuadrada, $p < 0.05$).

grasa (Paso 1 de la dieta de la Asociación Americana del Corazón), en la reducción de colesterol total en plasma y colesterol LDL, en comparación con una dieta americana típica. Los mismos autores reportan que reemplazar el 15 % de la ingesta de energía dietaria por nueces de macadamia (40-90 g/día) redujo el colesterol total y LDL e incrementó el colesterol HDL en sujetos hipercolesterolémicos después de 4 semanas. En términos del contenido de aminoácidos, las nueces son relativamente abundantes en arginina. Estudios en modelos animales, sugieren que la arginina puede tener efectos reductores sobre el colesterol, lo que puede explicar el efecto hipercolesteromiantes de las nueces (Lovejoy, 2005). Varios estudios reportan que la alta ingesta de arginina en la dieta se asocia con los bajos niveles de la proteína C-reactiva, un fuerte factor de riesgo para las enfermedades cardiovasculares (ECV). Diversos ensayos aleatorizados y controlados demuestran que AGMI dietarios previenen o mejoran el riesgo de síndrome metabólico (SM) y ECV a través de una modulación favorable de lípidos en la sangre, presión arterial y sensibilidad a la insulina. Por otra parte, la oxidación preferencial de AGMI y la influencia del metabolismo en la composición corporal, potencialmente mejoran el riesgo de obesidad (Gillingham, 2011). Considerando el reemplazo de ácidos grasos saturados (AGS), en comparación con hidratos de carbono o AGMI, son efectivos en el mantenimiento de los niveles de las lipoproteínas de colesterol HDL (HDL-C), bajos niveles de triglicéridos y mejoramiento a la sensibilidad a la

insulina; beneficios que son especialmente importantes en individuos con SM y DM. La apreciable cantidad de minerales (cenizas) presentes en las galletas, provienen del lactosuero adicionado. Existen varios reportes, como el de Esquivel (2004), que indican que la presencia de ácido láctico en el intestino promueve la absorción de minerales a nivel de células epiteliales, así como un mejoramiento en el movimiento peristáltico.

Evaluación sensorial

Los resultados de la evaluación sensorial realizada con los preescolares a los cuatro tipos de galletas se presentan en la Figura 2, las galletas que presentaron

mayor grado de aceptabilidad fueron las provenientes de las formulaciones 3 y 4, ambas con un 96 % de preferencia por los jueces; seguidas por las de la formulación 1 con el 92 %; y con menor aceptabilidad las de la fórmula 2, con un 86 %; sin embargo, al analizar los resultados por estadística binomial, se encontró que los cuatro tipos de galletas presentaron un 99.9 % ($P < 0.05$) de nivel de agrado o preferencia hacia los jueces evaluadores; el alto grado de aceptabilidad presentado por las fórmulas 3 y 4, probablemente se debe a la combinación de cada uno de los ingredientes; lo que da como resultado un mejor producto, tanto en consistencia como en sabor. En la Tabla 2, se muestran los

Figura 2.

Nivel de agrado por tipo de galleta evaluada.

Figure 2. Liking level by type of cookie assessed.

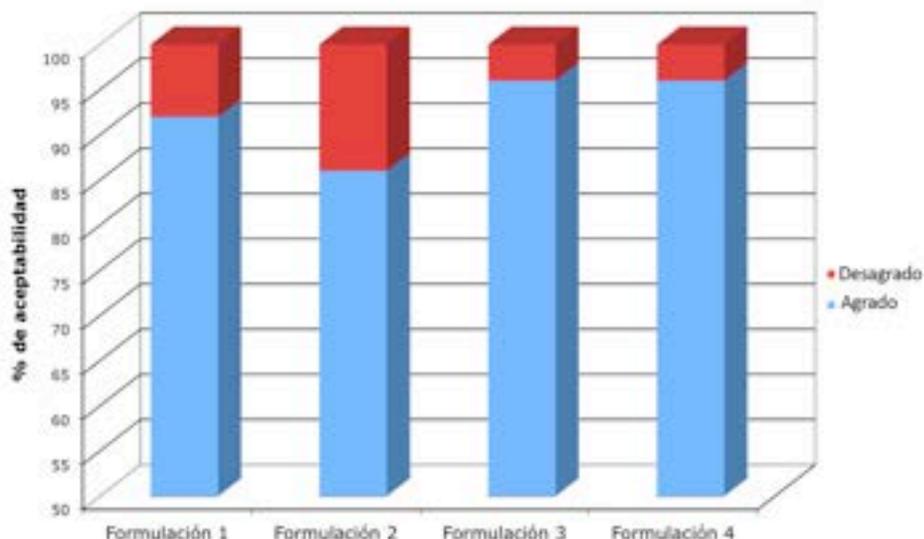
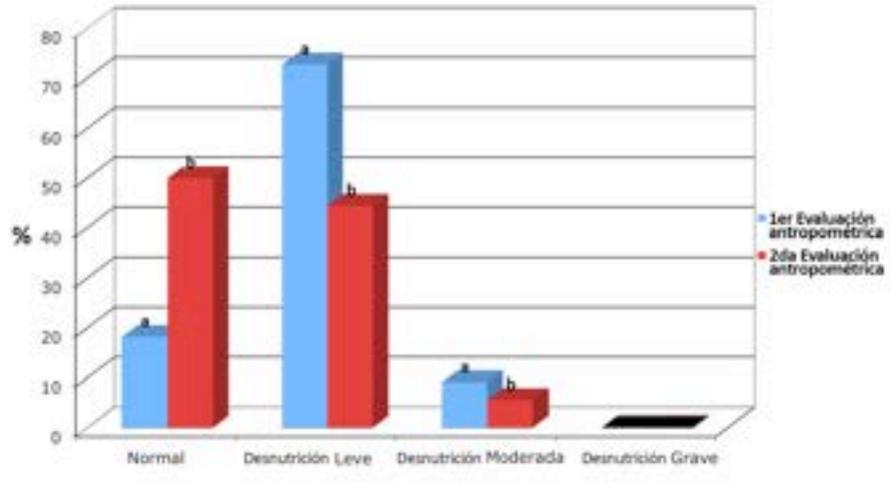


Figura 3.

Comparación del estado nutricional previo y posterior a la alimentación de los niños de acuerdo al indicador P/T.

Figure 3. Comparison of nutritional status before and after feeding the children according to Weight/Height indicator.



resultados sensoriales de los cuatro tipos de galletas de acuerdo al nivel de agrado. El análisis de ji-cuadrada de estos resultados mostró que no existen diferencias estadísticas significativas ($P < 0.05$) en el nivel de agrado o preferencia de las galletas por los jueces evaluadores y por nivel de atributo, análisis concordante con la prueba estadística binomial. Galdámez y col. (2009), obtuvieron un perfil de atributos con jueces entrenados de tres tipos de galletas elaboradas con harina de trigo y enriquecidas con harina de lactosuero, ellos concluyeron que los jueces no encontraron diferencias significativas entre los atributos de los tres tipos de galletas, además reportan haber encontrado un alto nivel de agrado o preferencia para los tres tipos de alimentos, y que la adición de harina de lactosuero, no genera ningún cambio de sabor en el producto que conlleve al rechazo por los jueces.

Evaluación nutricional de las galletas

En la Figura 3, se presentan los resultados de la comparación entre la primera y segunda evaluación antropométrica para el indicador peso para la talla (P/T), en la población infantil de la comunidad en estudio. En esta se puede observar que la desnutrición moderada (DM), disminuyó 3.53 %, la desnutrición leve (DL), pasó de 72.72 a 44.43 %, y la población estudiada con estado nutricional normal pasó de 18.18 a 50.0 %, entre la primera y segunda evaluación antropométrica, resultados estadísticamente significativos ($P < 0.05$). Los resultados indican un mejoramiento progresivo en la recuperación del estado nutricional de los preescolares a los que se les otorgó la galleta por un período de 90 días, al encontrar que el 31.82 % de los niños recuperó su estado nutricional normal, consecuente de una disminución considerable de la desnutrición leve y moderada. La recuperación del porcentaje de niños con estatura moderada entre el primero y segundo diagnóstico se debe

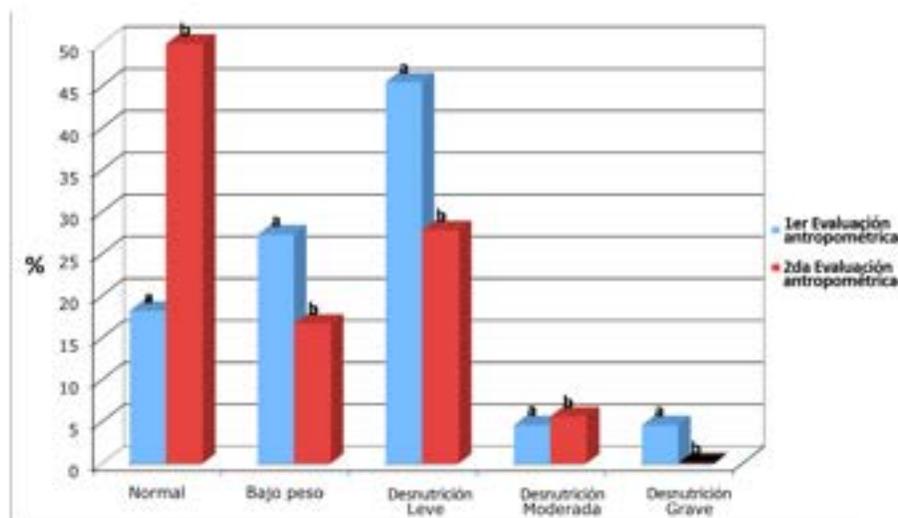
a que incrementaron su crecimiento, los niños que se encontraban con estatura moderada lograron aumentar algunos centímetros presentando en el segundo diagnóstico desnutrición leve, efecto debido a la ingesta de proteínas principalmente provenientes del lactosuero con que se formuló la galleta, así como de la presencia de hidratos de carbono en las mismas, que contribuyen a la ganancia en peso de los niños. Resultados similares, fueron reportados por Vela y col. (2009), al evaluar el impacto nutricional de una papilla elaborada a base de frutas tropicales adicionada con suero de leche en un grupo de niños en edad preescolar en una comunidad de alta marginación en el estado de Chiapas, México. El acceso y la disponibilidad de alimentos condicionan, en gran medida, el tipo de alimentación de cada región y, por ende, el estado nutricional de sus habitantes. Dentro de este grupo, los niños son los primeros afectados, debido a su susceptibilidad a los problemas de salud y nutrición. Los problemas de desnutrición frecuentemente se encuentran en lugares marginados, y en

algunos lugares suburbanos, como es el caso de la comunidad "Chiapas Solidario" del municipio de Tuxtla Gutiérrez, Chiapas. Además se encuentran ligados a la baja o nula ingesta de alimentos de alta calidad proteica y calórica. Caballero y col. (2004), evaluaron el impacto nutricional de un programa de alimentación durante un período de intervención de 6 a 9 meses (inclusión en la dieta de 2.72 Kg mensuales por beneficiario de un suplemento alimenticio a base de cereales y leguminosas, fortificado con calcio, hierro y vitamina A), ellos encontraron que un 35 % de los niños desnutridos intervenidos y un 24 % de los niños en riesgo mejoró parcialmente o normalizó su estado nutricional.

Se puede observar en la Figura 4 de acuerdo al IMC, un incremento del 31.82 % de los niños con estado nutricional normal, así como una disminución de 10.62 y 17.68 % del bajo peso y de la desnutrición leve, respectivamente, con diferencias estadísticas significativas ($P < 0.05$) respecto al primer y segundo diagnóstico efectuado. En la misma Figura se puede observar que la desnutrición grave desapareció después de la intervención;

Figura 4.

Comparación del estado nutricional previo y posterior a la alimentación de los niños de acuerdo al IMC.
Figure 4. Comparison of nutritional status before and after feeding the children according to IMC indicator.



mientras que la desnutrición moderada aumentó 1.03 %. Este aumento, se debe a que los niños con desnutrición grave mejoraron su estado nutricional, originándose tal efecto. Varios estudios han demostrado, de forma consistente, que productos formulados con proteínas y que contienen una proporción más elevada de proteína de suero de leche/caseína son más tolerados por el organismo debido a su capacidad de pasar más rápidamente por el estómago.

La desnutrición altera el sistema inmunológico y afecta los mecanismos de defensa, en especial la inmunidad celular, lo que favorece que las infecciones sean más frecuentes, prolongadas y graves.

Estas infecciones contribuyen a agravar aún más el estado nutricional del niño, estableciéndose un círculo vicioso difícil de romper, que empeora con el tiempo. Adicionalmente, un niño desnutrido tiene un escaso desarrollo muscular y se encuentra ante un mayor riesgo de contraer enfermedades crónicas en la edad adulta (Gajate e Inurritegui, 2003).

CONCLUSIONES

El alto grado de aceptabilidad mostrado en las diferentes pruebas realizadas a los alimentos, el análisis químico proximal y el efecto positivo de la intervención, medido a través del impacto de las galletas sobre el estado nutricional de los preescolares, determinaron la alta viabilidad del producto para ser utilizado en comunidades de alta marginación, donde los niveles de desnutrición son altos. La galleta adicionada con suero de leche dirigida a preescolares es una alternativa viable para reducir los índices de desnutrición en zonas marginadas, tal y como se muestra en esta investigación. Aunado, a que existe suficiente evidencia del alto contenido de proteínas y de ácidos grasos monoinsaturados en las nueces de macadamia, presentes en las galletas, así como del efecto benéfico dietario de estos ácidos grasos sobre los factores de riesgo para las enfermedades cardiovasculares y del síndrome metabólico. Además que por su bajo costo tendrá gran accesibilidad para los individuos de poblaciones marginadas. ■

AGRADECIMIENTOS

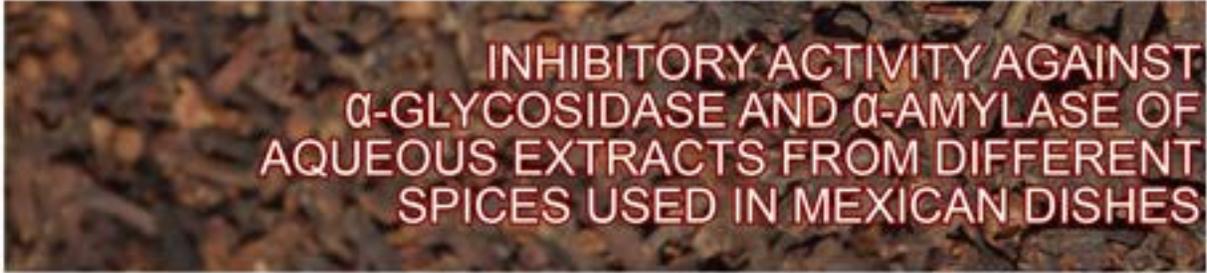
Los autores agradecen a los revisores de la tesis de pregrado de Karla Berenice López Villafuerte y Diana Xóchitl Martínez Cabrera. A los técnicos académicos de la Facultad de Ciencias de la Nutrición y Alimentos de la Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas, y a las profesoras y profesores del Jardín de niños "Juan Sabines Gutiérrez" de la colonia Chiapas Solidario del municipio de Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, por el apoyo brindado para la realización de esta investigación; así como al Programa de Mejoramiento al Profesorado (Promep) de la Secretaría de Educación federalizada por otorgar los recursos para el desarrollo de este estudio.

REFERENCIAS

- AOAC International. (2003). *Official methods of analysis of AOAC International*. USA: Association of Analytical Communities.
- Benítez, B., Archile, A., Rangel, L., Ferrer, K., Barboza, Y. y Márquez, E. (2008). Composición proximal, evaluación microbiológica y sensorial de una galleta formulada a base de harina de yuca y plasma de bovino. *Interciencia*, 33(1): 61-65.
- Curb, J. D., Wergowske, G., Dobbs, J. C., Abbott, R. D., and Huang, B. (2000). Serum lipid effects a High-monounsaturated fat diet based on Macadamia nuts. *Archives of Internal Medicine*, 160(8):1154-1158.
- De-Caballero, E., Sinistera, O., Lagrutta, F. y Atalah, E. (2004). Evaluación del impacto nutricional del programa de alimentación complementaria

- de Panamá en niños menores de 5 años. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. 54(1): 66-71.
- De-Luna, J. A. (2007). Composición y procesamiento de la soya para consumo humano. *Investigación y Ciencia*. 15(37):35-44.
- ENSANUT, Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (2006). Resultados Nacionales [En línea]. Disponible en: <http://www.insp.mx/encuesta-nacional-salud-y-nutricion-2006.html>. Fecha de consulta: 10 de noviembre de 2011.
- ENSANUT, Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (2012). *Resultados Nacionales*. México: Instituto Nacional de Salud Pública (INSP). 196 Pp.
- Esquivel, G. (2004). Los probióticos ¿realidad o moda?. *Cuadernos de nutrición*. 27(1):24-25.
- FAO (2005). La desnutrición y su incremento. [En línea]. Disponible en: http://www.fao.org/index_es.htm. Fecha de consulta: 20 de octubre de 2011.
- FAO (2006). Macadamia (*Macadamia integrifolia*, *Macadamia ternifolia*). Ficha técnica. [En línea]. Disponible en: http://www.fao.org/inpho_archive/content/documents/vlibrary/ae620s/pfrescos/Macadamia.htm. Fecha de consulta: 12 de Julio de 2013.
- Gajate, G. e Inurritegui, M. (2003). El impacto del vaso de la leche sobre el nivel de desnutrición infantil. *Economía y Sociedad*. 50: 63-70.
- Galdámez, G. K., Gamboa, C. M., Márquez, M. R., Ballinas, G. M. N., López, Z. E. J. y Vela-Gutiérrez, G. (2009). Elaboración y evaluación sensorial de galletas enriquecidas con harina lactosuero. *Revista Lacandonia*. 3(2): 23-28.
- Garg, M. L., Blake, R. J., Wills, R. B. H. y Clayton, E. H. (2007). Macadamia nut consumption modulates favourably risk factors for coronary artery disease in hypercholesterolemic subjects. *Lipids*. 42:583-587.
- Gillingham, L. G., Harris-Janzen, S. y Jones, P. J. H. (2011). Dietary monounsaturated fatty acids are protective against metabolic syndrome and cardiovascular disease risk factors. *Lipids*. 46:209-228.
- Korhonen, H. J. (2010). Whey proteins: Super ingredients for functional foods?. *NutraFoods*. 9(4):5.
- López, J. S. L., López, Z., E. J., Ballinas, D. E. J. y Vela, G. G. (2012). Condiciones óptimas de secado, evaluación sensorial y vida de anaquel de un alimento infantil a base de lactosuero, harina de mamey y mango y cacahuete. *Revista Química Viva*. 2(11): 112-128.
- López, V. K. B. y Cabrera, M. D. X. (2011). Impacto nutricional y evaluación sensorial de galletas adicionadas con lactosuero, soya y macadamia en preescolares de Chiapas Solidario del municipio de Tuxtla Gutiérrez. Tesis de Licenciatura en Nutriología. Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas.
- Lovejoy, J. C. (2005). The impact of nuts on diabetes and diabetes risk. *Current Diabetes Reports*. 5:379-384.
- NOM-031-SSA2-1999 (1999). Norma Oficial Mexicana, para la atención a la salud del niño. [En línea]. Disponible en: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/031ssa29.html>. Fecha de consulta: 8 de abril de 2012.
- OMS (2011). Estadísticas Sanitarias Mundiales [En línea]. Disponible en: http://www.who.int/whosis/whostat/ES_WHS2011_Full.pdf. Fecha de consulta: 4 de octubre de 2011.
- Singh, U. y Singh, B. (1992). Tropical grain legumes as important human foods. *Economic Botany*. 46(3):310-321.
- UNICEF (2010). Protege a la niñez de la nutrición. [En línea]. Disponible en: <http://www.unicef.org/spanish/nutrition/index36170.html>. Fecha de consulta: 10 de noviembre de 2010.
- Valadez, T. M. (2010). *Desarrollo infantil 1: Estructuración de la realidad en el niño*. México: Editorial Trillas. 328 Pp.
- Vela, G. G., Castro, M. M., Caballero, R. A., y Ballinas, D. E. J. (2012). Bebida probiótica de lactosuero adicionada con pulpa de mango y almendras sensorialmente aceptable en adultos mayores. *Revista de Revisiones de la Ciencia, Tecnología e Ingeniería de Alimentos*. 11(2): 10-20. 357Pp.
- Vela, G. G., Vargas, G. F. M., Cortés, P. E., López, D. A., Flores, G. L. E., y López, Z. E. J. 2009. Impacto nutricional y sensorial de un alimento infantil (papilla) adicionado con lactosuero. *Revista Avances en Seguridad Alimentaria y Nutricional*. 1(1): 31-36
- Villacís, S. M. E. (2011). Elaboración y evaluación nutricional de una bebida proteica para infantes a base de lactosuero y leche de soya. Tesis de Bioquímico Farmacéutico. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba, Ecuador.[En línea]. Disponible en: <http://dspace.espace.edu.ec/bitstream/123456789/1583/1/56T00264.pdf>. Fecha de consulta: 4 de octubre de 2013.

ACTIVIDAD INHIBITORIA SOBRE α -GLUCOSIDASA Y α -AMILASA DE EXTRACTOS ACUOSOS DE ALGUNAS ESPECIAS UTILIZADAS EN LA COCINA MEXICANA



INHIBITORY ACTIVITY AGAINST
 α -GLYCOSIDASE AND α -AMYLASE OF
AQUEOUS EXTRACTS FROM DIFFERENT
SPICES USED IN MEXICAN DISHES

Osmary Alín Sevilla-Asencio,
Octavio Dublán-García,
Leobardo Manuel Gómez-Oliván,
Leticia Xochitl López-Martínez*

Facultad de Química, Universidad
Autónoma del Estado de México.
Paseo Colón, esq. Paseo Toluca,
Toluca, Estado de México, México,
C.P. 50120.

*Autor para correspondencia:
lomarleticia@gmail.com

Fecha de recepción: 29 de marzo de 2013.
Fecha de aceptación: 11 de julio de 2013.

RESUMEN

La diabetes es una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en el mundo. Muchos estudios están dirigidos hacia la búsqueda de componentes dietarios que sean benéficos para su tratamiento y prevención. El objetivo del presente estudio fue examinar el efecto antioxidante e inhibitorio de α -glucosidasa y α -amilasa de extractos acuosos de canela (*Cinnamomum zeylanicum*), comino (*Cuminum cyminum*), orégano (*Origanum vulgare*), pimienta negra (*Piper nigrum*) y clavo (*Eugenia caryophyllus*), que son especias utilizadas comúnmente en la cocina mexicana. Se prepararon extractos acuosos (50 °C durante 3 h) y se determinó

el contenido de compuestos fenólicos totales, actividad antioxidante y potencial inhibitorio in vitro de α -glucosidasa y α -amilasa. El contenido de compuestos fenólicos totales varió de 3.12 a 104.4 mg/g de muestra. Todos los extractos mostraron actividad antioxidante que fue expresada como porcentaje de inhibición del radical DPPH \cdot (30 % a 80 %) y capacidad inhibitoria de α -glucosidasa de 22 % a 70 %. La inhibición de la actividad α -amilasa se encontró de 0 % a 50 %. Los extractos acuosos de canela presentaron mayor capacidad inhibitoria contra la acción de la α -glucosidasa y actividad contra el radical DPPH \cdot , los extractos acuosos de orégano mostraron menor inhibición de la actividad

Figura 1.

Muestras de Orégano (*Origanum vulgare*).
Figure 1. Oregano samples (*Origanum vulgare*).



α -glucosidasa y no presentaron inhibición contra la actividad α -amilasa. La efectividad inhibitoria de las enzimas y el contenido de compuestos fenólicos totales no presentó correlación. Sin embargo, se encontró una correlación entre la actividad antioxidante y el contenido de compuestos fenólicos totales ($r^2 = 0.94$, $P < 0.05$). La inhibición de α -glucosidasa y α -amilasa es una de las formas terapéuticas para retardar la digestión y absorción de los carbohidratos y en consecuencia, la reducción de glucosa postprandial en sangre. El uso de especias culinarias consumidas en los platillos mexicanos podría representar un uso potencial durante los estados tempranos de hiperglicemia.

PALABRAS CLAVE: α -amilasa, α -glucosidasa, actividad antioxidante, especias.

ABSTRACT

Diabetes is one of the main causes of morbidity and mortality around the world. Many studies have been conducted to find beneficial dietary components for its treatment and prevention. The aim of the present work was to evaluate the antioxidant and inhibitory effects of α -glycosidase and α -amylase from aqueous extracts of cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*), cumin (*Cuminum cyminum*) oregano (*Origanum vulgare*), black pepper (*Piper nigrum*) and clove (*Eugenia caryophyllus*), which are widely used in Mexican dishes. Aqueous extracts were prepared (50 °C for 3h) and phenolic compounds content, antioxidant activity, as well as the in vitro inhibitory potential of α -glycosidase and α -amylase, were determined. The contents of phenolic compounds ranged from 3.12 to 104.4 mg/g of sample. All the extracts exhibited an antioxidant activity, expressed as the percentage of inhibition of DPPH- radical (30 to 82 %) and inhibitory capacity of α -glycosidase (22 to 70 %). The inhibition of α -amylase activity was found between 0 AND 50 %. The aqueous extracts of cinnamon yielded highest inhibitory

capacity against α -glycosidase and DPPH-radical activities. The aqueous extracts of oregano showed lowest inhibition against α -glycosidase activity and did not show inhibition against α -amylase. The inhibitory effectiveness of the enzymes and the total phenolic compounds were not correlated. However, there was a correlation between the antioxidant activity and the total phenolic compounds ($r^2 = 0.94$, $P < 0.05$). The inhibition of α -glycosidase and α -amylase is one of the therapeutic approaches to slow down the digestion and absorption of carbohydrates and hence, the reduction of postprandial blood glucose. The use of these typical Mexican spices has potential in the early stages of hyperglycemia treatment.

KEYWORDS: α -amylase, α -glycosidase, antioxidant activity, species.

INTRODUCCIÓN

La prevalencia de pacientes con diabetes mellitus ha incrementado en los últimos años, debido a los cambios en el estilo de vida y el consumo de dietas con alto contenido de carbohidratos (Tappy y Lê, 2010). La diabetes tipo 2 es la forma más común de diabetes caracterizada por la resistencia a la insulina y un incremento anormal de azúcar en sangre inmediatamente después de consumir alimentos (hiperglicemia postprandial) (Kwon y col., 2007); y es uno de los desórdenes de salud asociado con la incidencia y la progresión de enfermedades microvasculares (retinopatía diabética, pérdida de la visión y nefropatías) y macrovasculares (amputaciones y enfermedades cardiovasculares). Uno de los enfoques terapéuticos más importantes para disminuir la hiperglicemia postprandial es retardar la absorción de la glucosa a través de la inhibición de las enzimas que hidrolizan carbohidratos como α -glucosidasa y α -amilasa. Estudios epidemiológicos han demostrado que dietas ricas en frutas y vegetales pueden reducir el riesgo de una amplia variedad de enfermedades incluyendo a la diabetes, debido a la presencia de compuestos de

naturaleza fenólica (Srinivasan, 2005). Se ha reportado que esos compuestos poseen efectos benéficos incluyendo efectos inhibitorios de las enzimas α -glucosidasa y α -amilasa (Cheplick y col., 2010; Ranilla y col., 2010). Las especias son parte de las plantas que se utilizan frescas o secas para agregar sabor, aroma y sensación picante a los alimentos y bebidas (McGee, 2004), son una excelente fuente de antioxidantes de origen natural, y algunas de ellas son más efectivas que algunos antioxidantes de origen sintético y más seguras desde el punto de vista de la salud. El objetivo del presente estudio fue examinar el efecto antioxidante e inhibitorio de α -glucosidasa y α -amilasa de extractos acuosos obtenidos de algunas especias utilizadas en la cocina mexicana: canela (*Cinnamomum zeylanicum*), comino (*Cuminum cyminum*), orégano (*Origanum vulgare*), (Figura 1) pimienta negra (*Piper nigrum*) y clavo (*Eugenia caryophyllus*).

MATERIALES Y MÉTODOS

El reactivo de Folin-Ciocalteu, ácido gálico, fosfato monobásico, fosfato dibásico, cloruro de sodio, nitrofenil α -D-glucopiranosido, 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-ácido carboxílico (Trolox), DPPH-(1-diphenyl-2-picrylhydrazyl), α -amilasa, α -glucosidasa y acarbosa fueron obtenidos de Sigma-

Aldrich Chemical Co. (St. Luis, MO); carbonato de sodio, fenol, sulfato de sodio y ácido dinitrosalicílico (DNS) fueron adquiridos de BAKER (Phillipsburg, NJ), y el hidróxido de sodio, carbonato de sodio y etanol fueron obtenidos de Fisher Scientific (Pittsburg, PA).

Espicias

Las especias utilizadas en este estudio: canela (*Cinnamomum zeylanicum*), comino (*Cuminum cyminum*), orégano (*Origanum vulgare*), pimienta negra (*Piper nigrum*) y clavo (*Eugenia caryophyllus*), fueron obtenidas en forma seca en el mercado Miguel Hidalgo de Toluca, Estado de México, en el año 2012. Todas las muestras fueron sometidas a molienda (KRUPS Gx 4100) hasta la obtención de un polvo fino con un molino para café y especias.

Preparación de los extractos acuosos

Se pesaron 5 g de cada muestra molida en un tubo de 40 mL, y se adicionaron 25 mL de agua destilada. Los tubos se colocaron en baño maría a 50 °C durante 3 h. Se agitaron cada 30 min con un vórtex. Después de ese tiempo, las muestras fueron filtradas con papel filtro Whatman No. 421. Los filtrados se colectaron y se centrifugaron a 8000 rpm (Sorvall RC5C, Sorvall Instruments, Dupont, Wilmington, DE) durante 10 min. Después de este tiempo, los sobrenadantes fueron colectados y refrigerados hasta el momento de ser analizados.

Determinación de compuestos fenólicos totales

Los compuestos fenólicos totales se determinaron por el procedimiento de Gao y col. (2002), utilizando el reactivo de Folin-Ciocalteu. Se adicionaron a tubos de ensayo 400 µL de una solución acuosa de ácido gálico y 1.6 mL de carbonato de sodio al 7.5 % (en agua destilada); posteriormente, se colocaron 400 µL del reactivo de Folin-Ciocalteu (diluído 2 veces con agua destilada). Se mezclaron 100 µL de los extractos acuosos de las especias con los reactivos mencionados anteriormente. Después, la mezcla reposó durante 90 min en ausencia de luz a temperatura ambiente, y se determinó la absorbancia a 765 nm en un espectrofotómetro con arreglo de diodos (Hewlett Packard HP 8452A). Los resultados fueron expresados como mg de ácido gálico/g

de especia molida en base a una curva estándar de 0-600 mg de ácido gálico/mL.

Inhibición del radical DPPH-

La actividad antioxidante fue analizada por el método de Ranilla y col. (2010), con algunas modificaciones: 100 µL de los extractos acuosos (estandarizados a 0.25 mM de compuestos fenólicos totales) de cada una de las especias, fueron transferidos a tubos de polipropileno, donde se adicionaron 2.8 mL de una solución del radical DPPH- disuelto en metanol (98.9 µM). Se agitaron en un vórtex durante 15 s y se mantuvieron en ausencia de luz durante 30 min. Después de ese tiempo, se determinó la absorbancia a 515 nm. Se utilizó metanol como blanco, una solución de Trolox 0.02 mM como control positivo antioxidante, y el control fue una mezcla de 2.8 mL de DPPH- y 100 µL de metanol.

La actividad antioxidante se expresó como % de inhibición:

$$\% \text{ inhibición} = [(A_{\text{blanco}} - A_{\text{muestra}}) / A_{\text{blanco}}] \times 100$$

Donde:

A_{blanco} = Absorbancia sin el extracto.

A_{muestra} = Absorbancia con el extracto.

Actividad inhibitoria de la enzima α -glucosidasa

El ensayo para medir la inhibición de la actividad α -glucosidasa de los extractos acuosos de las especias fue adaptado de Yuan y col. (2012). Una mezcla de 50 µL de los extractos acuosos, 100 µL de amortiguador de fosfatos 0.1 M a pH 6.9, y 100 µL de una solución de α -glucosidasa de levadura *S. cerevisiae* (67 mU/ensayo) se incubó en un plato de 96 pozos a 25 °C durante 10 min. Después de ese tiempo, se adicionaron 100 µL de una solución de p-nitrofenil α -D glucopiranosido (p-NPG) 0.1 M en amortiguador de fosfatos pH 6.9 a cada pozo. Esta mezcla fue nuevamente incubada a 25 °C. La absorbancia fue determinada a 405 nm en un lector de microplatos (SpectraMax M2, Molecular Devices Corp., SoftmaxPro v.4.6 software, Sunnyvale, CA, USA). Los cambios en la absorbancia fueron monitoreados inicialmente antes de la incubación y después de 30 min (de la adición del p-NPG); y fueron comparados con una muestra control que consistió en 50 µL de amortiguador de

fosfatos pH 6.9, en lugar de los extractos. Se utilizó una solución de acarbosa (0.44 mg/mL) como inhibidor positivo.

El porcentaje de inhibición de la actividad enzimática fue calculada por:

$$\% \text{ inhibición} = \left[\frac{(\Delta A_{\text{blanco}} - \Delta A_{\text{muestra}})}{\Delta A_{\text{blanco}}} \right] \times 100$$

Donde:

ΔA_{blanco} : Cambios en la absorbancia del control.

$\Delta A_{\text{muestra}}$: Cambios en la absorbancia de la muestra.

Actividad inhibitoria de la enzima α -amilasa

El ensayo para medir la inhibición de la actividad de la α -amilasa por los extractos acuosos de las especias fue adaptado de Adisakwattana y col. (2009). La enzima α -amilasa (páncreas de porcino) (3 U/mL) fue disuelta en amortiguador de fosfatos salino 0.1 M, pH 6.9. Se adicionaron 200 µL de los extractos estandarizados a 0.25 mM de compuestos fenólicos totales a una solución de almidón (1 g/L); la reacción fue iniciada al adicionar 500 µL de la solución de la enzima, y la mezcla fue incubada a 25 °C durante 10 min en tubos de ensayo. Después de ese tiempo, se adicionaron 500 µL de una solución de 10 g/L de amortiguador de fosfatos 0.02 M (pH 6.9 con cloruro de sodio 6 mM). La mezcla de reacción se incubó nuevamente a 25 °C durante 10 min, y se detuvo por la adición de 1 mL de una solución de ácido dinitrosalicílico (1 % 3,5-ácido dinitrosalicílico, 0.2 % fenol, 0.05 % Na_2SO_3 y 1 % NaOH en solución acuosa). Después de ese tiempo, la mezcla se incubó en un baño de temperatura controlada (90 °C) durante 5 min, y se enfrió a temperatura ambiente. Posteriormente, la mezcla se diluyó con 10 mL de agua destilada y se determinó la absorbancia a 540 nm, de 0.44 mg/mL como inhibidor positivo. La muestra control consistió en 200 µL de amortiguador de fosfatos pH 6.9, en lugar de los extractos.

El porcentaje de inhibición de la actividad enzimática fue calculada por:

$$\% \text{ inhibición} = \left[\frac{(\Delta A_{\text{blanco}} - \Delta A_{\text{muestra}})}{\Delta A_{\text{blanco}}} \right] \times 100$$

Donde:

$\Delta A_{\text{control}}$: Cambios en la absorbancia del control.

$\Delta A_{\text{muestra}}$: Cambios en la absorbancia de la muestra.

Todos los experimentos fueron realizados por triplicado.

Análisis estadístico

Para todos los experimentos se utilizó un diseño por bloques completamente al azar, y la significancia de diferencias entre medias de los tratamientos fue establecida utilizando un ANOVA de una sola vía, seguida con una comparación de Fisher con el software estadístico MINITAB® v. 15.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Compuestos fenólicos totales

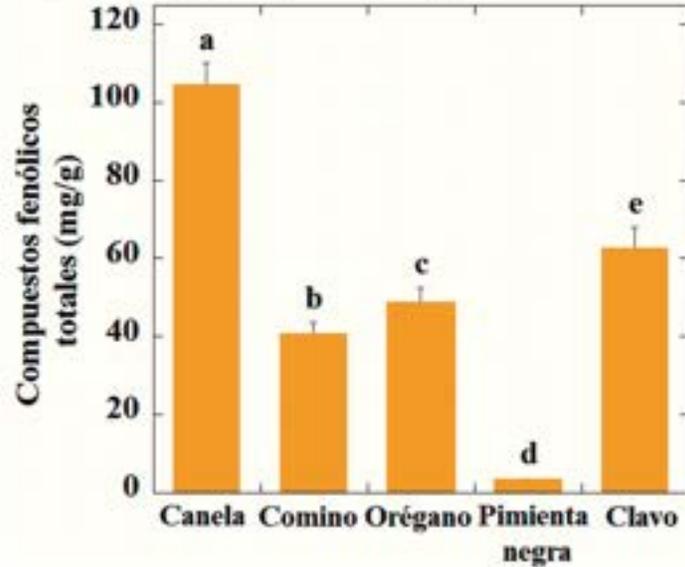
Los fitoquímicos, en especial los compuestos fenólicos están recibiendo creciente atención debido a sus actividades biológicas. Cho y col. (2003), reportaron que este tipo de compuestos juegan un papel importante en la modulación de la actividad α -glucosidasa y α -amilasa, por lo tanto, pueden contribuir al manejo de la diabetes tipo 2, y en este estudio los compuestos fenólicos constituyen el principal grupo de compuestos que actúan como antioxidantes. El contenido de compuestos fenólicos totales de los extractos acuosos de las especias seleccionadas se muestra en la Figura 2. La diferencia en la concentración de compuestos fenólicos entre extractos fue estadísticamente significativa ($P < 0.05$).

En general, el contenido de compuestos fenólicos varió de entre 3.12 a 104.4 mg/g. El extracto acuoso de canela mostró la mayor concentración en el contenido de compuestos fenólicos (104.4 mg/g), seguido de clavo (62.5 mg/g), orégano (48.2 mg/g) y comino (40.2 mg/g). La pimienta negra mostró la menor concentración (3.20 mg/g). Estos resultados son similares a los obtenidos por Kim y col. (2011), quienes reportaron que el contenido de compuestos fenólicos de las extracciones acuosas de distintas especias varió de 4.02 a 108.2 mg/g. También se han encontrado derivados de flavonoides en estas especias tales como antocianinas, flavonas, catequinas y ácido gálico, que se ha demostrado presentan actividades antioxidantes y capacidad de

Figura 2.

Contenido de compuestos fenólicos totales de los extractos acuosos de canela, comino, orégano, pimienta negra y clavo. Los resultados son expresados como la media de los análisis y su desviación estándar por triplicado.

Figure 2. Total phenolic compounds of aqueous extracts from cinnamon, oregano, cumin, black pepper and clove. Values are expressed as the means \pm SD for 3 replicates.



reducir el estrés oxidativo celular (Oboh y col., 2007).

Actividad antioxidante

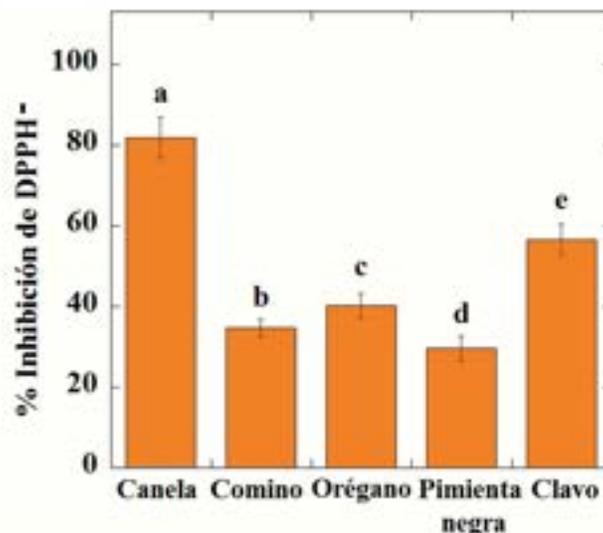
La actividad antioxidante de las especias es atribuida principalmente a fitoquímicos de

naturaleza fenólica presentes en ellas. Se encontró que los extractos acuosos de todas las especias presentaron actividad antioxidante basada en la capacidad de los extractos acuosos de donar un átomo de H, y por lo tanto neutralizar al radical DPPH $^{\cdot}$. Esta habilidad

Figura 3.

Actividad antioxidante sobre el radical DPPH $^{\cdot}$ de los extractos acuosos de canela, comino, orégano, pimienta negra y clavo. Los resultados son expresados como la media \pm DE de los análisis por triplicado.

Figure 3. DPPH radical scavenging activity of aqueous extracts from cinnamon, oregano, cumin, black pepper and clove. Values are expressed as the means \pm SD for 3 replicates.



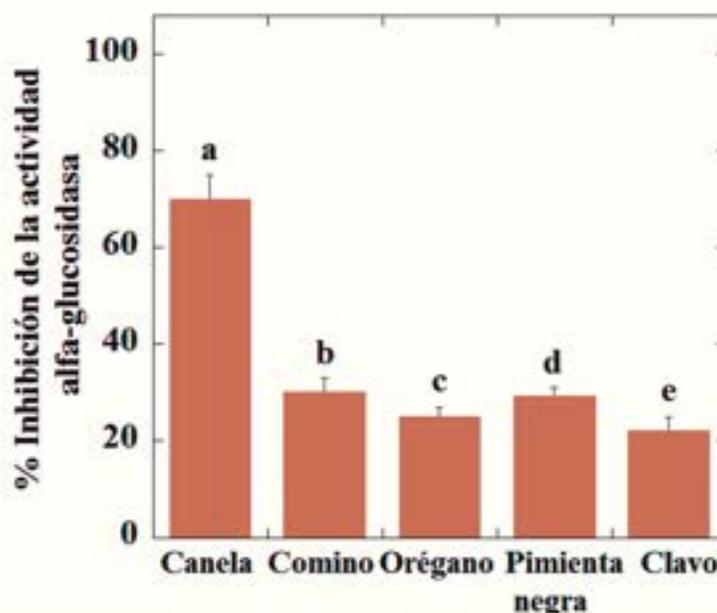
varió de 30 a 80 % (Figura 3). El extracto de pimienta negra presentó la menor actividad antioxidante, mientras que los extractos de canela mostraron la mayor actividad contra el radical DPPH-. Para la validación de esta prueba se utilizó Trolox 0.02 mM como estándar positivo antioxidante, el cual mostró un porcentaje de inhibición del radical DPPH- de 98 %. Aunque la actividad antiradical de los extractos acuosos de las especias fue menor que el presentado por el Trolox, el estudio revela que estos extractos actúan como antioxidantes primarios presentando la capacidad de inhibir o detener la acción del radical DPPH-. Las diferencias observadas en las actividades antioxidantes pueden ser debido a la presencia de diferentes compuestos presentes en los extractos. La correlación presentada entre la actividad antioxidante y el contenido de compuestos fenólicos fue significativa ($r^2 = 0.94$, $P < 0.05$), soportando que el contenido de estos compuestos contribuye significativamente a la actividad antioxidante. Este tipo de correlaciones han sido reportadas previamente por Zheng y col. (2001) y Kim y col. (2011).

Actividad inhibidora de α -glucosidasa
Las enzimas glucosidasas localizadas en los vellos de la superficie de la membrana intestinal son enzimas clave en la digestión de carbohidratos. La administración oral de inhibidores de glucosidasas retarda la digestión y absorción de carbohidratos y modulan así, la elevación de la glucosa postprandial en sangre. En la Figura 4 se muestra el efecto inhibitorio de los extractos acuosos de las especias sobre la actividad α -glucosidasa. Se utilizó acarbosa como inhibidor de referencia, mostrando una inhibición del 93 %. Todos los extractos exhibieron capacidad de inhibir la actividad de esta enzima (22-70 %) a la concentración estandarizada de 0.25 mM de compuestos fenólicos totales, pero fueron menos efectivos comparados con la droga terapéutica acarbosa. Los extractos acuosos de canela presentaron la mayor actividad inhibidora, mientras que los extractos de clavo mostraron la menor actividad contra la enzima α -glucosidasa, la enzima clave

Figura 4.

Efecto de la actividad inhibitoria de los extractos acuosos de canela, comino, orégano, pimienta negra y clavo sobre α -glucosidasa. Los resultados son expresados como la media de los análisis por triplicado.

Figure 4. α -glucosidase inhibitory effect of the aqueous extractos from cinnamon, oregano, cumin, black pepper and clove. Values are expressed as the means \pm SD for 3 replicates.



para metabolizar los oligosacáridos no absorbibles en monosacáridos absorbibles en el intestino delgado. La inhibición de estas enzimas retarda la digestión de oligosacáridos, disacáridos y monosacáridos, disminuyendo la absorción de la glucosa y consecuentemente disminuyendo la glucosa postprandial.

Actividad inhibidora de α -amilasa

La α -amilasa, enzima salival o pancreática juega un papel importante en la ruptura temprana de carbohidratos complejos a moléculas simples. Todos los extractos, excepto los de orégano exhibieron capacidad de inhibir la actividad de esta enzima (0 - 50 %) a la concentración estandarizada de 0.25 mM, pero fueron menos efectivos comparados con la droga terapéutica acarbosa (82 %). El porcentaje más elevado de inhibición fue observado en los extractos acuosos de canela (50 %), mientras que los extractos de orégano mostraron la menor actividad contra la enzima α -amilasa (0 %) (Figura

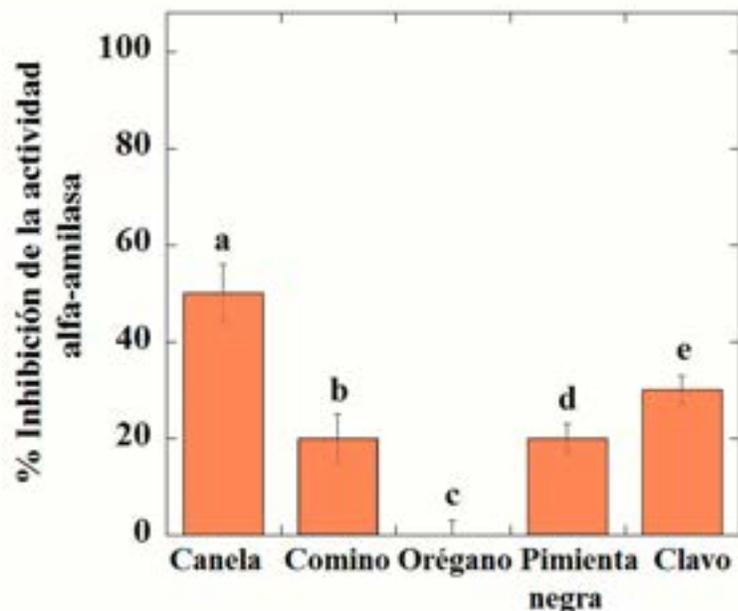
5). La α -amilasa es una de las enzimas responsables por la hidrólisis del almidón, produciendo azúcares simples como glucosa y maltosa. La inhibición de esta enzima puede retardar la digestión de carbohidratos y reducir la velocidad de absorción de glucosa, y consecuentemente podría disminuir los niveles de glucosa postprandial en sangre.

Haciendo una comparación entre el contenido de compuestos fenólicos totales y el potencial de inhibición de α -glucosidasa ($r^2 = 0.75$, $P < 0.05$) y α -amilasa ($r^2 = 0.62$, $P < 0.05$) se observaron correlaciones no significativas. Además, la mayor capacidad de inhibir la actividad de α -glucosidasa comparada con α -amilasa, exhibida por los extractos acuosos, podría evitar los efectos secundarios de los medicamentos utilizados para la inhibición de α -glucosidasa y α -amilasa como distensión abdominal, flatulencia, meteorismo y diarrea (Bischoff, 1994). Estos efectos pueden ser causados por la excesiva inhibición de la amilasa intestinal, lo que

Figura 5.

Efecto de la actividad inhibitoria de los extractos acuosos de canela, comino, orégano, pimienta negra y clavo sobre α -amilasa. Los resultados son expresados como la media de los análisis por triplicado.

Figure 5. α -glucosidase inhibitory effect of the aqueous extracts from cinnamon, oregano, cumin, black pepper and clove. Values are expressed as the means \pm SD for 3 replicates.



provoca fermentación bacteriana anormal de los carbohidratos no digeridos en el colon. Por lo tanto, este estudio confirma el hecho, de que los inhibidores originarios de especias poseen baja actividad inhibitoria contra α -amilasa, y fuerte actividad inhibitoria contra α -glucosidasa, y pueden ser utilizadas para el manejo de la hiperglicemia postprandial con efectos secundarios mínimos (Know y col., 2007; Oboh y col., 2007).

CONCLUSIONES

Este estudio muestra que existen diferencias en el contenido de compuestos fenólicos, actividad antioxidante y actividad inhibitoria de enzimas que hidrolizan carbohidrato de extractos acuosos de cinco especias comúnmente consumidas en platillos de la cocina mexicana. Se reporta una fuerte correlación entre el contenido de compuestos fenólicos totales y la actividad antioxidante, además, la fuerte inhibición de α -glucosidasa y la débil inhibición de α -amilasa indican que las especias consideradas en este estudio son una opción para la reducción de glucosa postprandial en sangre. ■

REFERENCIAS

Adisakwattana, S., Chantarasinlapin, P., Thammarat, H., and Yibchok-Anun, S. (2009). A series of cinnamic acid derivatives and their inhibitory activity on intestinal alpha-glucosidase. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 24 (5): 1194–1200.

Bischoff, H. (1994). Pharmacology of glucosidase inhibitor. *European Journal of Clinical Investigation*, 24: S3–10.

Cheplick, S., Kwon, Y. I., Bhowmik, P., and Shetty, K. (2010). Phenolic-linked variation in strawberry cultivars for potential dietary management of hyperglycemia and related complications of hypertension. *Bioresource Technology*, 101: 404–413.

Cho, E. J., Yokozawa, T., Rhyu, D. Y., Kim, S. C., Shibahara, N., and Park, J. C. (2003). Study on the inhibitory effects of Korean medicinal plants and their main compounds on the 1, 1-diphenyl 2-picrylhydrazyl radical. *Phytomedicine*, 10(6-7): 544–51.

Gao, L., Oomah, B. D., and Mazza, G. (2002). *Wheat quality: antioxidant*

activity wheat millstreams. In P. Ng, & C. W. Wrigley (Eds.), *Wheat quality elucidation*. St. Paul, MN: AACC International, AACC Press. 233 Pp.

Kim, I. S., Yang, M. R., Lee, O. H., and Kang, S. N. (2011). Antioxidant activities of hot water extracts from various spices. *International Journal of Molecular Sciences*, 12(6): 4120–4131.

Kwon, Y. I., Apostolidis, E., Kim, Y. C., and Shetty, K. (2007). Health Benefits of Traditional Corn, Beans, and Pumpkin: In Vitro Studies for Hyperglycemia and Hypertension Management. *Journal of Medicinal Food*, 10(2): 266–275.

McGee, H. (2004). *Flavoring, from plants: herbs and species, tea and coffee*. In H McGee (Ed.), *McGee on food and cooking*. London: Holder and Stoughton, Ltd. 450 Pp.

Oboh, G., Puntel, R. L., and Rocha, J. B. T. (2007). Hot pepper (*Capsicum annuum*, Tepin and *Capsicum chinense*, Habanero) prevents Fe²⁺-induced lipid peroxidation in Brain: in vitro. *Food Chemistry*, 102: 178–185.

Ranilla, L. G., Kwon, Y. I., Apostolidis,

E., and Shetty, K. (2010). Phenolic compounds antioxidant activity and in vitro inhibitory potential against key enzymes relevant for hyperglycemia and hypertension of commonly used medicinal plants, herbs and spices in Latin America. *Bioresource Technology*, 101: (12) 4676–4689.

Srinivasan, K. (2005). Plant foods in the management of diabetes mellitus: spices as beneficial antidiabetic food adjuncts. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 56(6): 399–414.

Tappy, L. and Lê, K. A. (2010). Metabolic effects of fructose and the worldwide increase in obesity. *Physiological Reviews*, 90 (1): 23–46.

Yuan, T., Wan, C., Liu, K., and Seeram, N. P. (2012). New maplexins FI and phenolic glycosides from red maple (*Acer rubrum*) bark. *Tetrahedron*, 68 (4): 959–964.

Zheng, W. and Wang, S. (2001). Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49 (11): 5165–5170.

INVESTIGACIÓN DE *BACILLUS CEREUS* Y CALIDAD SANITARIA DE MUESTRAS DE ARROZ COCIDO RECOLECTADAS EN DIFERENTES ESTABLECIMIENTOS DE LA CIUDAD DE PUEBLA, MÉXICO

RESEARCH OF *BACILLUS CEREUS* AND SANITARY QUALITY IN SAMPLES OF COOKED RICE GATHERED IN DIFFERENT ESTABLISHMENTS OF PUEBLA CITY, MEXICO

Fausto Tejeda-Trujillo^{2*}, Claudy Lorena Villagrán-Padilla¹,
Gloria León-Tello², Mónica Adriana Tejeda-Hernández³

Laboratorio de Inocuidad Microbiana de los Alimentos. ¹Integrantes del CA-38 en Microbiología. Depto. de Microbiología. Facultad de Ciencias Químicas, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. ²Facultad de Ingeniería Química, Ambiental y Alimentos, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. C.U. 14 Sur y San Claudio. Col. San Manuel. Puebla, Puebla, México, C.P. 72570.

*Autor para correspondencia: fausto.tejeda@correo.buap.mx

Fecha de recepción: 29 de marzo de 2013 / Fecha de aceptación: 12 de septiembre de 2013.

RESUMEN

Bacillus cereus es reconocido como un agente patógeno causante de intoxicaciones alimentarias. Se han presentado brotes asociados al consumo de arroz contaminado con esta bacteria. Es uno de los pocos patógenos con capacidad de deteriorar los alimentos. En un brote ocurrido en 1994, en el Estado de Puebla, las personas afectadas manifestaron haber consumido arroz ácido o agrio.

Se determinó la calidad sanitaria de 50 muestras de arroz cocido recolectadas en diferentes establecimientos de la ciudad de Puebla (hogares, fondas, tortillerías y supermercados). El recuento de *B. cereus* se realizó en el agar MYP (manitol, yema de huevo polimixina), los recuentos de bacterias mesofilicas aerobias y bacterias coliformes totales, se realizaron siguiendo la metodología oficial vigente. Se obtuvieron recuentos

elevados de bacterias mesofilicas aerobias (> 10⁶ UFC/g) en el 22 % de las muestras, y en el 44 % se demostró la presencia de bacterias coliformes totales. En el 10 % de la muestras se recuperó *B. cereus*. Aun en cifras muy por debajo de las consideradas como un riesgo para la salud, si se almacena en condiciones de abuso de temperatura, como suele ocurrir en los sitios muestreados el arroz contaminado puede

representar un riesgo a la salud del consumidor.

PALABRAS CLAVE:

Bacillus cereus, arroz cocido, enfermedad transmisible por alimentos, intoxicación alimentaria, enfermedad emética.

ABSTRACT

Bacillus cereus is recognized as a pathogenic agent causative of food poisonings. There have been outbreaks associated

**Figura 1.**

Muestras de arroz cocido.
Figure 1. Cooked rice samples.

with the consumption of rice contaminated with this bacterium. It is one of the few pathogens with capacity to spoil the food. An outbreak occurred in 1994, in the state of Puebla, México, people infected claimed to have consumed "acid rice". The sanitary quality was determined on 50 samples of cooked rice gathered in different establishments of the Puebla, City (homes, diners, tortilla shops and supermarkets). The count of *B. cereus* was realized on MYP agar (mannitol-egg yolk-polymyxin B agar), mesophilic aerobic bacteria and coliforms bacteria recounts were performed following the official methodology. Results obtained showed mesophilic aerobic bacteria high counts (> 10⁶ CFU/g) in 22 % of the samples and in 44 % coliforms bacteria presence was demonstrated. In 10 % of the samples *B. cereus* was recuperated. Even with figures considered far below those of health risk, if stored in conditions of temperature abuse, as it often happens in the sampled sites contaminated rice still represents a health risk for the consumer.

KEYWORDS: *Bacillus cereus*, cooked rice, foodborne disease, food poisoning, emetic type of illness.

INTRODUCCIÓN

Bacillus cereus es una bacteria Gram positiva, esporulada, ampliamente distribuida en la naturaleza. Siendo el suelo su principal reservorio. A partir de este, prácticamente puede alcanzar todos los materiales, que a su vez pueden contaminar los alimentos. El hecho de ser una bacteria esporulada, le da persistencia en el medio ambiente (Frazier y Westoff, 2000; Michael y col., 2007). La espora de *B. cereus* es un factor importante en la enfermedad alimentaria, ya que es más hidrófoba que cualquiera de las demás esporas de *Bacillus* spp., lo que le permite adherirse a varios tipos de superficies. Por consiguiente, es difícil eliminarla del material durante la limpieza. Sus esporas también poseen pili, que están implicados, en la adherencia. Lo que permite que las esporas resistan los procedimientos normales de limpieza y desinfección. La adherencia de las esporas a las células epiteliales, seguida de su germinación y producción de enterotoxinas, puede explicar los periodos de incubación prolongados que se observan en algunos brotes relacionados con alimentos (Patrick y Robert, 2005).

Se ha asociado a intoxicaciones alimentarias desde 1950 por Hauge (Fernández, 2008). En

los Estados Unidos, ha ocasionado 37 brotes de intoxicación alimentaria con 571 casos, entre 1998 y 2002 (Lynch y col., 2006). Los alimentos implicados epidemiológicamente en brotes han sido: carne, leche, verduras, papas, pastas, quesos y arroz cocido. De acuerdo con la Food and Drug Administration (FDA) (2012), un número superior a un millón de organismos por gramo en alimentos, representa un riesgo potencial a la salud del consumidor. El contacto directo del hombre con esta bacteria es un acontecimiento cotidiano (Fernández, 2008).

La temperatura óptima de desarrollo de *B. cereus* es de 30 °C, con límites de 5 a 50 °C. Su tiempo de generación en arroz cocido es de 26 a 31 min a 30 °C y de 30 a 54 min a 37 °C. Johnson y col. (1983), observaron que la germinación de esporas es más activa en arroz que en caldo soya tripticasa a bajas temperaturas (menor de 15 °C), destacando el inconveniente de extrapolar resultados en medios de cultivo a alimentos. Los tiempos de generación más cortos fueron de 18-27 min a 40 °C. La actividad de agua mínima para desarrollar es de 0.93, en tanto que su pH óptimo es de 7.0, con límites de 4.4 a 9.3. No es una bacteria nutricionalmente exigente, por lo que no es de extrañar que

desarrolle en diversos alimentos (Patrick y Robert, 2005).

Se ha asociado a dos tipos de padecimientos causados por dos distintos metabolitos: la enfermedad diarreaica, causada por una proteína de alto peso molecular y la enfermedad de tipo emético, causada por un péptido termoestable de bajo peso molecular (FDA, 2012). Entre los alimentos involucrados en brotes de enfermedades transmisibles por alimentos (ETA's) destacan: carne, leche, verduras y pescado, que han sido asociados a la enfermedad diarreaica. Entre los alimentos involucrados con la enfermedad emética se encuentran: arroz, papas, pasta y quesos (Michael y col., 2007). La intoxicación alimentaria por *B. cereus* es autolimitada y no requiere tratamiento antimicrobiano, el tratamiento es sintomático y ocasionalmente es necesario rehidratación.

Actualmente, *B. cereus* así como *Clostridium perfringens* aparecen entre los tres primeros lugares de importancia como agentes causantes de toxiinfecciones, en países como Canadá, Estados Unidos y países europeos (Oviedo, 1996).

En nuestro país prácticamente no hay estudios acerca de este microorganismo, probablemente debido a la baja letalidad

de la enfermedad, o al desconocimiento de *B. cereus* como agente etiológico de ETA's.

El objetivo del trabajo fue investigar la presencia de *B. cereus* a partir de muestras de arroz cocido (Figura 1), recolectado en diferentes sitios de la ciudad de Puebla, así como evaluar su calidad sanitaria a través del recuento de bacterias mesofílicas aerobias (BMA) y bacterias coliformes totales (BCT) (Secretaría de Salud, 1994a).

MATERIALES Y MÉTODOS

Se analizaron 50 muestras recolectadas en hogares (17), tortillerías (7), centros comerciales (2) y fondas (24), durante el periodo octubre - diciembre 2009. La recolección de las muestras fue realizada por verificadores de la Subdirección de Regulación Sanitaria de la Secretaría de Salud del Estado de Puebla, y consistió en la recolección de aproximadamente 80 g de muestra, depositada en un frasco estéril, transportada en condiciones de refrigeración (4-8 °C), y analizada en un periodo no mayor a dos horas posterior a su recolección. Los sitios de muestreo también fueron seleccionados por la Dependencia Estatal anteriormente mencionada, a excepción de las muestras provenientes de hogares, que fueron recolectadas por estudiantes, capacitados para tal actividad, del Laboratorio de Inocuidad Microbiana de los Alimentos, de la Facultad de Ciencias Químicas, de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

La realización de los recuentos, se hizo de acuerdo a las normas oficiales mexicanas

vigentes (Secretaría de Salud, 1994b; 1994c; 1994d), o bien, las citadas en la literatura científica (Tallent y col., 2012). Con base a ello, se pesaron 10 g de la muestra por analizar en una bolsa de plástico estéril Nasco Whirl Pack, USA). Se adicionó un volumen de 90 mL del diluyente de peptona (Becton Dickinson de México, S.A. de C.V. Cuautitlán Izcalli, México) llevado a una temperatura similar a la de la muestra. Se mezcló en Stomacher 400 (Lab System) durante 1 min a velocidad normal, hasta obtener una suspensión completa y homogénea. Se permitió que las partículas grandes sedimenten, y se transfirió la cantidad deseada tomando de las capas superiores de la suspensión. Se realizaron de las diluciones decimales correspondientes, agitando en un Vortex-2 Genie (Scientific industries, Inc.

Bohemia, NY, USA). El recuento de *B. cereus* se realizó sobre el agar MYP (manitol-yema de huevo-polimixina) (Becton, Dickinson and Company Sparks, MD 21152, USA) por la técnica de extensión en superficie (Figura 2) y las placas fueron incubadas a 30 °C (Incubadora Termolab, México), de acuerdo a lo sugerido por la FDA (2012). El contenido de BMA y BCT se determinó utilizando métodos oficiales vigentes (Secretaría de Salud, 1994b; 1994d), incubando las placas a 35 °C por 48 y 24 h respectivamente (Incubadora Felisa, México).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se detectaron cifras mayores de un millón de UFC/g de BMA en el 22 % de las muestras, lo que se puede relacionar con un almacenamiento en condiciones de abuso de temperatura y/o exposición a diferentes fuentes

de contaminación, como sucede en tortillerías, algunos autoservicios e incluso en el hogar. Esta observación tiene como sustento el que se trata de un alimento sometido a tratamiento térmico, lo que origina una disminución en el contenido de BMA. Se considera "almacenamiento en condiciones de abuso de temperatura", cuando los alimentos se conservan entre 15 y 60 °C, que es el rango en que algunas bacterias pueden sobrevivir e incluso desarrollar.

Se ha hecho popular la venta de este producto en tortillerías y autoservicios, observándose que se venden a temperatura ambiente, donde se mantienen así por varias horas, lo que se puede traducir en un factor desencadenante para la aparición de algún brote de intoxicación alimentaria. Veintidós muestras (44 %) contenían BCT, grupo cuya

Figura 2.

Inoculación de la muestra en agar MYP por la técnica de extensión en superficie para el recuento de *Bacillus cereus*.

Figure 2. Spread inoculum over surface of MYP agar, using sterile bent glass streaking rod.



presencia pone de manifiesto malas prácticas higiénicas posteriores a la cocción, ya que se trata de bacterias no termodúricas. En alimentos cocinados, no es importante el número de BCT, ya que son bacterias no termodúricas, y por lo tanto su sola presencia pone de manifiesto malas prácticas higiénicas poscocción. La presencia de BCT fue principalmente en muestras recolectadas en hogares (8), fondas (8), tortillerías (4) y centros comerciales (2). En 5 muestras (3 caseras, 1 tortillería y 1 de un centro comercial) se encontró *B. cereus* en cifras

que van de 5 mil a 15 mil UFC/g. Para poder ocasionar un daño a la salud, *B. cereus* debe recuperarse en un elevado número a partir del alimento involucrado epidemiológicamente, de ahí la necesidad de cuantificar su contenido. El hecho de ser una bacteria esporulada, le da persistencia en el medio ambiente y fácil acceso a prácticamente todo alimento.

Si a esto se agrega un almacenamiento en condiciones de abuso de temperatura, la espora germina activamente el alimento con el consecuente riesgo a la salud del consumidor (Fernán-

dez, 2008), tal como sucedió en el brote ocurrido en Puebla, el 21 de Diciembre de 1994. Se recomienda que este tipo de alimento se mantenga muy caliente o muy frío hasta antes de su consumo (Sector, 2000).

CONCLUSIONES

El elevado contenido de bacterias mesófilas aerobias y la presencia de bacterias coliformes totales se relaciona con malas prácticas higiénicas durante su almacenamiento.

El 44 % de las muestras presentaron bacterias coliformes totales, lo que indica una contaminación poscocción.

En el 10 % de las muestras se recuperó *B. cereus*, aún en cifras muy por debajo de las consideradas como un riesgo para la salud. Por lo que se recomienda mantener este tipo de alimento muy caliente (arriba de 60 °C) o muy frío (8 °C) hasta antes de su consumo.

AGRADECIMIENTO

Los autores desean agradecer el apoyo del personal de la Subdirección de Regulación y Fomento Sanitario de la Secretaría de Salud en Puebla, en la recolección de las muestras, en especial a la Q.F.B. Juana Tula Gatica.

REFERENCIAS

- Fernández, E. E. (2008). *Microbiología e Inocuidad Microbiana de los Alimentos*. Ed. Universidad Autónoma de Querétaro. 131-139 Pp. (FDA) (2012). *Bad Bug Book, Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins*. Food and Drug Administration Second Edition. *Bacillus cereus* and other *Bacillus* species. 96-99. 2012. [En línea]. Disponible en: [http://www.fda.gov/downloads/Food/FoodSafety/FoodborneIllness/FoodbornePathogensNaturalToxins/BadBugBook/UCM297627.pdf](http://www.fda.gov/downloads/Food/FoodSafety/FoodborneIllness/FoodborneIllnessFoodbornePathogensNaturalToxins/BadBugBook/UCM297627.pdf). Fecha de consulta: 14 de junio de 2013.
- Frazier, W. C y Westoff, D. C. (2000). *Microbiología de los alimentos*. 4ª Edición. España: Ed. Acriba, S. A. 461-475 Pp.
- Johnson, K. M., Nelson, C. L., and Busta, F. F. (1983). Influence of temperature on germination and growth of spores of emetic and diarrheal strains of *Bacillus cereus* in a broth medium and rice. *Journal Food Science*. 48:286-287.
- Lynch, M., Painter, J., Woodruff, R., and Braden, Ch. (2006). Surveillance for foodborne disease outbreaks in United States, 1998-2002. *Morbidity and Mortality Weekly Report*. CDC-USA. 55(SS10):1-34
- Michael, P. D. Beuchat, L. R., and Doyle, M. P. (2007). *Food microbiology fundamentals frontiers*. 3ª Edition. Washington, D.C.: American Society Microbiology.
- Oviedo, H. P. (1996). Intoxicación alimentaria. *TecnoVet*. 1.
- Patrick, R. M. and Robert, H. Y. (2005). *Manual of clinical microbiology*. 7ª Edition. USA: American Society Microbiology.
- Secretaría de Salud (1994a). Norma Oficial Mexicana 093-SSA1-1994. Bienes y servicios. Prácticas de higiene y sanidad en la preparación de alimentos que se ofrecen en establecimientos fijos. [En línea]. Disponible en: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/093ssa14.html>. Fecha de consulta: 17 de junio de 2013.
- Secretaría de Salud (1994b). Norma Oficial Mexicana 092-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa. [En línea]. Disponible en: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/092ssa14.html>. Fecha de consulta: 17 de junio de 2013.
- Secretaría de Salud (1994c). Norma Oficial Mexicana 110-SSA1-1994, Bienes y servicios. Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico. [En línea]. Disponible en: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/110ssa14.html>. Fecha de consulta: 16 de junio de 2013.
- Secretaría de Salud (1994d). Norma Oficial Mexicana 113-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa. [En línea]. Disponible en: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/113ssa14.html>. Fecha de consulta: 16 de junio de 2013.
- SECTUR (2000). Norma Mexicana NMX-F-605-NORMEX-2000 Programa H. Secretaría de turismo. Tallent, S. M., Rhodehamel, E. J., Harmon, S. M., and Reginald, W. B. (2012). *Bacteriological Analytical Manual: Chapter 14. Bacillus cereus*. [En línea]. Disponible en: www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm070875.htm. Fecha de consulta: 18 de junio de 2013.

EFECTO DE LAS ALTAS PRESIONES HIDROSTÁTICAS SOBRE LOS CAMBIOS POSCOSECHA DE MANGO (*MANGIFERA INDICA*) 'MANILA' EN MADUREZ FISIOLÓGICA

EFFECT OF HIGH HYDROSTATIC PRESSURE ON POSTHARVEST BEHAVIOR OF 'MANILA' MANGO (*MANGIFERA INDICA*) AT PHYSIOLOGICAL MATURITY

Manuel A. Vargas Ortiz¹, Javier De la Cruz Medina¹, Rosa M. Oliart Ros¹, Andrés Rebolledo Martínez², José A. Ramírez³, Hugo S. García*

¹Unidad de Investigación y Desarrollo de Alimentos, Instituto Tecnológico de Veracruz.

M.A. de Quevedo 2779. Col. Formando Hogar, Veracruz, Veracruz, México, C.P. 91897.

²INIFAP, Campo Experimental Cotaxtla, km 34, Carr. Veracruz-Córdoba, Veracruz, México C.P. 91700.

³Dirección de Innovación Tecnológica, Centro de Excelencia, Universidad Autónoma de Tamaulipas, Centro Universitario, Cd. Victoria, Tamaulipas, México, C.P. 87140.

*Autor para correspondencia: hugosgg@gmail.com

Fecha de recepción: 21 de julio de 2013 / Fecha de aceptación: 26 de noviembre de 2013.

RESUMEN

El mango 'Manila' (*Mangifera indica*) cuenta con características organolépticas que lo hacen un fruto muy atractivo para su consumo en fresco, sin embargo, en México gran parte de la producción de este frutal es atacada por la mosca mexicana de la fruta (*Anastrepha ludens*). La alta presión hidrostática se emplea para garantizar la inocuidad de diferentes alimentos procesados y recientemente ha sido propuesta como método cuarentenario alternativo contra *A. ludens*. El objetivo del presente estudio fue establecer el efecto de las altas presiones hidrostáticas sobre la

fisiología poscosecha del mango 'Manila' almacenado a temperatura ambiente. Se utilizaron dos niveles de presión: 75 y 150 MPa; con cuatro niveles de tiempo: 0, 5, 10 y 20 minutos. Se determinaron cambios en la velocidad de respiración, producción de etileno, sólidos solubles totales, pH, acidez titulable, pérdida de peso, color y apariencia general. La presurización causó una reducción en la velocidad de respiración y producción de etileno, asociada con cambios negativos en el color, acidez, pérdida de peso y apariencia general. Los resultados obtenidos señalaron que el mango 'Manila' no resiste las

presurización como método cuarentenario al verse afectada negativamente su fisiología poscosecha.

PALABRAS CLAVE: Mango, mango 'Manila', fisiología poscosecha, alta presión hidrostática, método cuarentenario.

ABSTRACT

'Manila' mango (*Mangifera indica*) has organoleptic characteristics that make it a very attractive fruit for fresh consumption. However, in Mexico much of the production of this fruit is attacked by the Mexican fruit



Tomado de: <http://gestiouniversitaria.blogspot.mx/2013/03/mango.html>

fly (*Anastrepha ludens*). High hydrostatic pressure is used to ensure the safety of different processed foods and has recently been proposed as alternative quarantine method against *A. ludens*. The aim of this study was to establish the effect of high hydrostatic pressure on the postharvest physiology of 'Manila' mango stored at room temperature. Two levels of pressure were used: 75 and 150 MPa, with four levels of time: 0, 5, 10 and 20 minutes. Changes in the respiration rate, ethylene production, total soluble solids, pH, titratable acidity, weight, color and overall appearance, were determined. Pressurization caused a reduction in the rate of respiration and ethylene production, associated with negative changes in color, acidity, weight, and general appearance. Results indicated that 'Manila' mango cannot resist pressurization as quarantine method, affecting negatively the fruit postharvest physiology.

KEYWORDS: Mango, 'Manila' mango, postharvest physiology, high hydrostatic pressure, quarantine method.

INTRODUCCIÓN

La velocidad a la que respira un producto vegetal, en este caso un fruto, constituye un índice de la actividad metabólica de sus tejidos y una guía útil para determinar su vida comercial (Alviar y Torres, 2002). Ben-Yehoshua y col. (2005), observaron que las tasas de maduración y de senescencia en muchas frutas climatéricas como el mango, pueden ser afectadas por el control de la disponibilidad de O_2 y de CO_2 en la fruta durante la respiración, y que estos dos compuestos pueden tener un efecto inhibitorio significativo en la capacidad de producción de etileno, gas responsable de iniciar la maduración. Es así, que mucha de la investigación conducida para desarrollar técnicas que facilitan la extensión de la vida de almacenamiento de los mangos, se ha centrado en los métodos que permiten el control del O_2 , del CO_2 y/o del etileno (Slaughter, 2009). Uno de los cambios más significativos del mango es el que se percibe en su velocidad de respiración

(VR), y se ha observado que esta VR de frutos del mango, sigue el patrón de un producto climatérico regular y muestra un valor máximo (pico climatérico) durante la maduración poscosecha (Mitcham y McDonald, 1992).

Se denomina presión hidrostática a la presión que experimenta un cuerpo cuando es sumergido en un líquido, y está en función de la densidad del líquido, la fuerza de la gravedad y la profundidad a la cual se sumerge. El tratamiento por altas presiones es un proceso físico, no térmico, que consiste en someter al alimento a una elevada presión. El fluido transmisor de la presión suele ser el agua, de ahí el nombre de alta presión hidrostática (APH). Originalmente, la APH se empleó para inactivar microorganismos, dado que tiene efecto sobre la morfología celular, modifica reacciones enzimáticas y puede afectar mecanismos genéticos de las células microbianas, sin alterar la calidad sensorial ni los nutrientes de los alimentos (Cheftel, 1995).

Actualmente, se investiga la posibilidad de utilizar las APH como tratamientos cuarentenarios contra insectos plaga (Candelario-Rodríguez y col., 2010; Castañón-Rodríguez y col., 2011; Vargas y col., 2013a), así como para incrementar la producción de metabolitos con actividad antioxidante (Ortega-López y col., 2013). El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de las altas presiones hidrostáticas sobre la fisiología poscosecha del mango 'Manila' (*Mangifera indica*) durante el almacenamiento a 25 °C.

MATERIALES Y MÉTODOS

Mango 'Manila'

Se colectaron mangos de la variedad 'Manila' (*Mangifera indica*) en madurez fisiológica, se acondicionaron y se dividieron en 13 bloques, de los cuales, 12 se sometieron a presurizado de 75 y 150 megapascuales (MPa) a distintos tiempos de exposición (0, 5, 10 y 20 minutos). Un bloque en madurez fisiológica se dejó como grupo testigo (TV). Aunado a lo anterior, se colectaron frutos en madurez de consumo (TM). Posterior a los tratamientos, se almacenaron a 25 °C para estudios de

fisiología con intervalos de tres días.

Presurizado

El presurizado se aplicó con una prensa isostática fría CIP42260 (Avure Autoclave Systems, Columbus, OH, USA), con una cámara de presurizado de una capacidad de 6 litros con rango de 0.1 a 200 MPa. El medio presurizante fue una mezcla (5:1) de agua con un lubricante-anticorrosivo (Hydrolubric 120-B, EF Houghton and Co., Valley Forge, PA); los tratamientos fueron a 25 °C (Candelario-Rodríguez y col., 2010).

Producción de CO_2 y etileno

Se determinó la producción de CO_2 y etileno de los frutos durante su almacenamiento; para lo cual se colocaron frutos de forma individual en cámaras de respiración de 1 L de capacidad, herméticas y provistas de un septum de hule, durante 1 h. El gas producido por el fruto fue extraído con una jeringa para cromatografía de gases a través del septum, utilizando 1 mL de espacio de cabeza de la cámara. La cuantificación se realizó en un cromatógrafo de gases Hewlett-Packard HP5890 series II, con una columna Poraplot-Q de 12 m, bajo condiciones de 150 °C en el inyector split, 80 °C en el horno, 250 °C en el Detector de Ionización de Flama (FID), 250 °C en el Detector de Conductividad Térmica (TCD), y se utilizó nitrógeno (N_2) como gas acarreador a un flujo de 2 mL/min. Para calcular la concentración de etileno y CO_2 presente en la muestra, se empleó la fórmula indicada por Saltveit y Yang (1987).

Acidez titulable

El contenido de acidez se determinó como porcentaje de ácido cítrico por gramo de jugo de pulpa de los frutos. Se realizó por titulación con NaOH 0.1 N (de acuerdo al método establecido por la AOAC 1990).

pH

El pH se determinó en el jugo extraído de la fruta, empleando un potenciómetro Thermo ORION® modelo 5-STAR equipado con un electrodo de combinación de vidrio previamente calibrado y estandarizado con soluciones de pH conocido (AOAC, 1990).

Sólidos solubles totales

Se determinó la cantidad de sólidos solubles totales del jugo extraído de la pulpa de los frutos mediante un refractómetro ABBE® digital (Leica Mark II). Los resultados se reportaron como °Brix (AOAC, 1990).

Color

Se determinó el ángulo de color Hue (°Hue) de la cáscara y pulpa de los frutos, utilizando un colorímetro HunterLab MiniScan XE Plus, empleando la escala CIELab.

Firmeza

Se analizó la resistencia a la penetración en la cáscara de los frutos. La medición se realizó en tres diferentes partes del fruto, utilizando un penetrómetro de frutos, Wagner® FDK 20 (Norfolk, VA), con una punta cónica de 5 mm de diámetro (NMX-FF-014-1982).

Pérdida fisiológica de peso

La pérdida fisiológica de peso se determinó mediante el pesado directo de cada uno de los frutos en una balanza electrónica OHAUS® Modelo TS4KD.

Análisis estadístico

Los análisis se realizaron por triplicado, teniendo como unidad experimental un fruto, bajo un diseño completamente al azar. Los datos fueron sometidos a un análisis de varianza con el modelo general lineal (GLM), mediante el paquete estadístico SAS (Statistical Analysis System V. 8.0); las medias fueron comparadas por prueba de Duncan mediante el mismo software.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

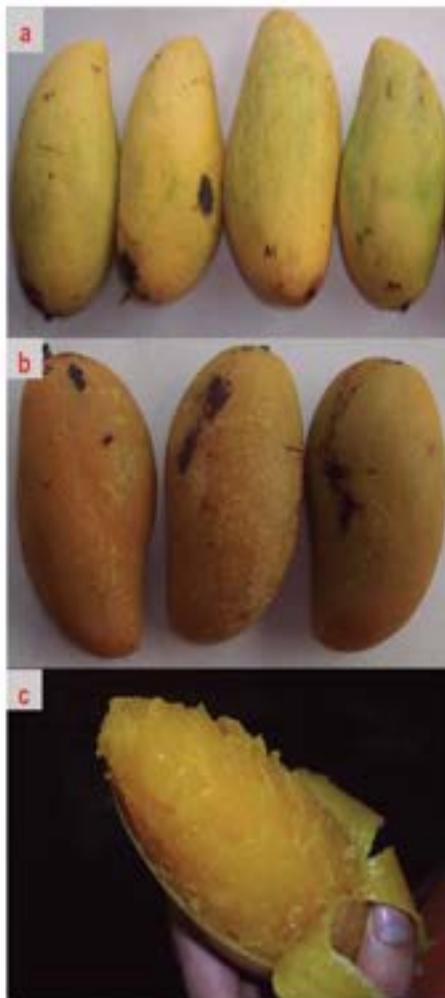
Efecto de la presurización en la apariencia y color

Los mangos 'Manila' en estado de madurez comercial presentaron una considerable afectación inmediata, debido a los tratamientos de presurización en su apariencia externa e interna, influenciada fuertemente por el tiempo y nivel de presurización (Figura 1), por lo que no es conveniente presurizar mangos en estado

Figura 1.

Efecto de las altas presiones hidrostáticas en la apariencia externa e interna del mango 'Manila' en estado de madurez comercial.

Figure 1. Effect of high hydrostatic pressure on the external and internal appearance of 'Manila' mango in ripening commercial stage.



de madurez comercial. No obstante lo anterior, es interesante observar que los mangos no presentaron fenómenos de ruptura estructural, cizalla o explosión inducida por los tratamientos de presurización a 75 y 150 MPa y despresurización inmediata. La susceptibilidad de los mangos maduros a los tratamientos de presurización, también ha sido reportada para mango 'Tommy Atkins' (*Mangifera indica*) (Candelario-Rodríguez y col., 2009).

Los mangos 'Manila' en estado de madurez fisiológica presentaron moderada afectación

inmediata (día 0), en su apariencia externa, por efecto de la presurización a 75 MPa; en tanto que los mangos presurizados a 150 MPa presentaron una gran afectación con cambios visibles inmediatos (Figura 2). Los cambios en la apariencia externa se manifestaron mediante la presencia de áreas irregulares con un ligero hundimiento, que adquirieron coloraciones cercanas al pardo, semejantes a los daños causados por raspaduras o golpes sobre la cáscara de los frutos. Conforme aumentó el tiempo de presurizado ocurrió un leve fenómeno de pérdida del color verde homogéneo, fenómeno que fue más notorio en los frutos presurizados a 150 MPa; en ambos niveles de presión, los mangos presurizados por 20 minutos mostraron mayor daño en la apariencia externa.

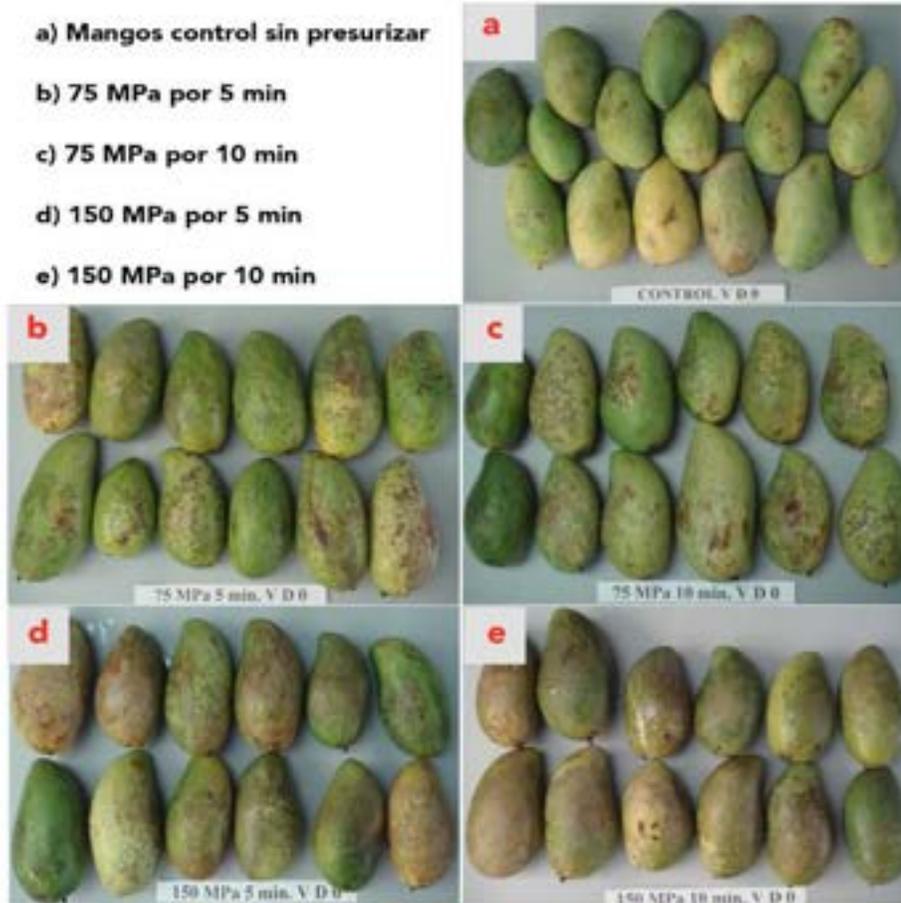
Los mangos en madurez fisiológica presurizados a 75 MPa presentaron en la cáscara un fenómeno de zonas con acumulación de pigmentación verde. Este fenómeno podría estar asociado con la descompartmentalización del tejido celular, provocando la acumulación de cloroplastos, y ha sido reportado recientemente por Vargas y col. (2013b), en mango 'Manila' sometido a tratamientos de APH de 100 y 200 MPa, y previamente por Álvarez-Virrueta y col. (2012), en mangos 'Ataulfo' presurizados a 30 MPa por 20 min y a 60 MPa por 10 a 20 min. Sin embargo, el mango variedad 'Tomy Atkins' pareció mostrar mayor resistencia al tratamiento por altas presiones (Candelario-Rodríguez y col., 2009). A este respecto, Krebbers y col. (2002), propusieron que los tratamientos de APH pueden causar ruptura celular, permitiendo la salida de clorofila al espacio intercelular. Préstamo y Arroyo (1998), reportaron cambios estructurales en células de espinaca sometidas a tratamientos de APH; dichos cambios abarcaron deformación celular, pérdida de turgencia, colapso celular y formación de orificios en los tejidos. Sin embargo, algunos orgánulos conservados fueron los cloroplastos en tejidos vasculares. Aunado a esto, Shimada y col. (1993), expresan que los tratamientos de altas presiones hidrostáticas pueden inducir alteraciones en la pared celular que generen cambios texturales y transparencia.

En los mangos 'Ataulfo' presurizados a

Figura 2.

Efecto de las altas presiones hidrostáticas en la apariencia externa del mango 'Manila' en estado de madurez fisiológica.

Figure 2. Effect of high hydrostatic pressure on the external appearance of the 'Manila' mango in physiological ripeness.



150 MPa, se presentó la inmediata desaparición del color verde en la cáscara de los frutos, para dar lugar a coloraciones cercanas al naranja y al beige (Figura 1), lo que contribuyó a que durante el almacenamiento adquirieran una apariencia distinta a la de un fruto madurado normalmente. Estas manchas provocaron un cambio rápido en la evolución del color entre los días 6 y 9 del almacenamiento para los tratamientos de 5, 10 y 20 minutos, terminando en valores aún más bajos que el grupo testigo, dado que las manchas beige se tornaron a tonos marrones.

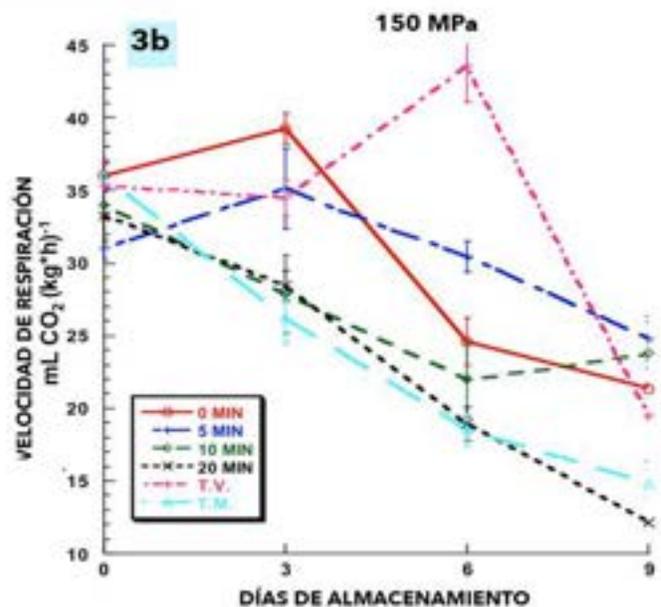
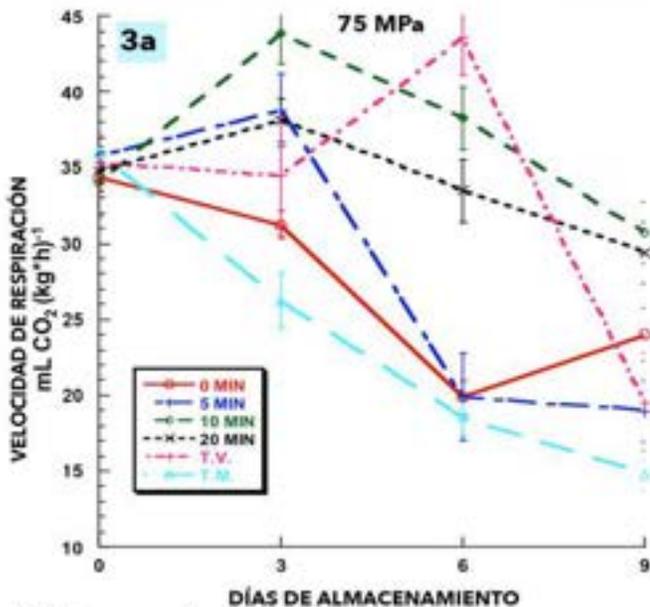
Velocidad de respiración

La velocidad de respiración inicial de los mangos en madurez comercial fue de 35 mL de CO₂ (kg*h)⁻¹, y disminuyó significativamente durante el almacenamiento, para alcanzar un valor final de 14.8 mL de CO₂ (kg*h)⁻¹ (Figura 3a). En tanto que, la velocidad de respiración de los mangos en madurez fisiológica, tuvo un valor inicial de 35 mL de CO₂ (kg*h)⁻¹, que permaneció

Figura 3.

Efecto de las altas presiones hidrostáticas en la velocidad de respiración del mango 'Manila' durante el almacenamiento.

Figure 3. Effect of high hydrostatic pressure on the respiration rate of 'Manila' mango during storage.



TV = Mango en madurez fisiológica.
 TM = Mango en madurez comercial.

estable durante los primeros tres días y se incrementó para alcanzar su pico en el día 6, con un valor máximo de 43.6 mL de CO₂ (kg*h)⁻¹, decreciendo posteriormente hasta un mínimo de 17.8 mL de CO₂ (kg*h)⁻¹ en el día 9, fecha en la cual ya tenía la madurez de consumo. Los tratamientos de presurización a 75 y 150 MPa (Figuras 3a y 3b) modificaron la velocidad de respiración del mango 'Manila'. En general, todos los mangos presentaron el pico de respiración en el día 3. Este pico de respiración fue de intensidad variada, desde muy notorio como en el caso de los mangos presurizados a 75 MPa por 5, 10 y 20 min o a 150 MPa por 0 y 5 min; o fue apenas detectable como en el caso de los mangos presurizados a 75 MPa por 0 min o a 150 MPa por 10 y 20 min (Figuras 3a y 3b). En todos los casos, los mangos presurizados presentaron una velocidad de respiración final igual o superior a la de los mangos testigos.

Los resultados obtenidos señalan que los tratamientos de presurización modificaron el metabolismo respiratorio del mango 'Manila', incluso a 75 MPa por 0 min. Resultados similares han sido reportados por Álvarez-Virrueta y col. (2012), quienes

encontraron que el mango 'Ataulfo' presurizado a 15, 30 o 60 MPa presentaron cambios en su metabolismo respiratorio en función del nivel de presurización, señalando como causas probables cambios estructurales a nivel celular, modificando la permeabilidad de la pared celular; o a nivel proteico, mediante la alteración de la estructura y función de enzimas involucradas en el metabolismo respiratorio.

Producción de etileno (C₂H₄)

Los mangos en madurez comercial presentaron un valor inicial de producción de etileno de 1 μL de etileno (kg*h)⁻¹, que decreció durante el almacenamiento, sin mostrar un pico o incremento, confirmando que su climaterio ya había sido alcanzado y estaban por iniciar el proceso de senescencia (Figuras 4a y 4b). Los mangos con madurez fisiológica, presentaron una producción de etileno inicial de 1.23 μL de etileno (kg*h)⁻¹, producción que incrementó durante los primeros tres días, alcanzando un valor máximo (pico climaterico) de 1.51 μL de etileno (kg*h)⁻¹ en el día 3, para posteriormente descender drásticamente a 0.48 μL de etileno (kg*h)⁻¹ en el día 6, y

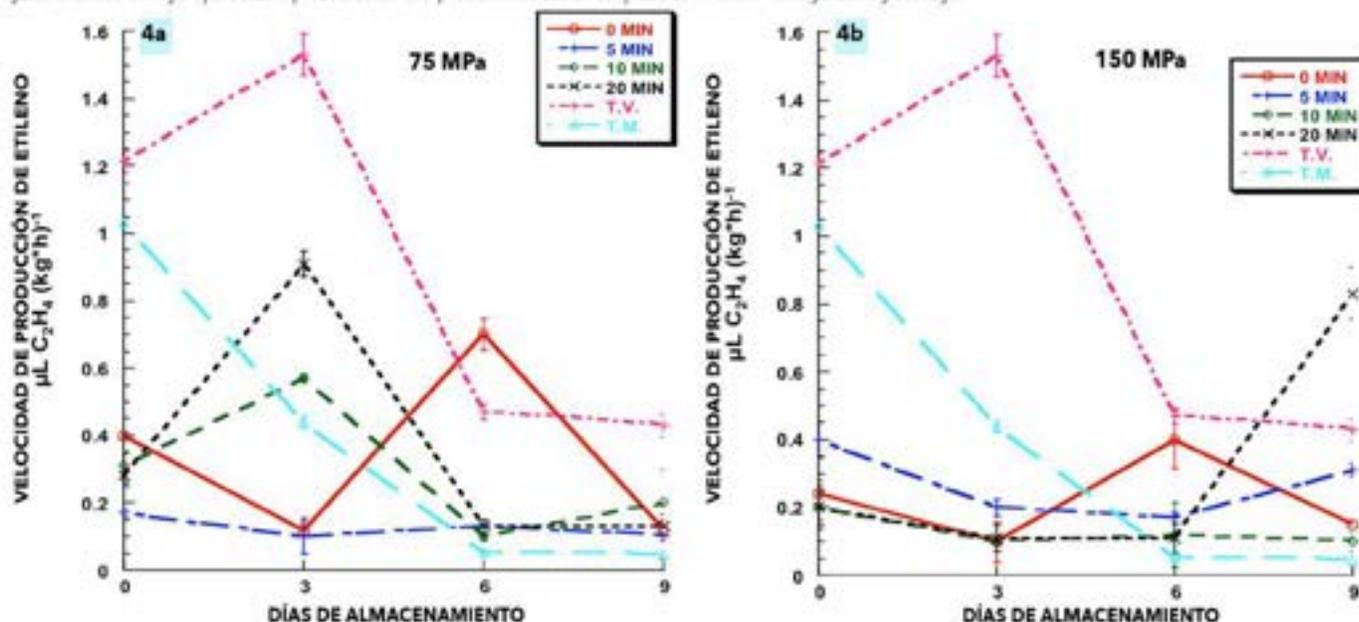
mantenerse constante en esa velocidad de producción hasta el día 9.

La presurización modificó la velocidad de producción de etileno de los mangos 'Manila', independientemente del nivel y tiempo de presurización empleado (Figuras 4a y 4b). En todos los casos a 75 MPa, la producción de etileno disminuyó de 1.2 μL de etileno (kg*h)⁻¹ en el mango control, a un rango de 0.2 a 0.4 μL de etileno (kg*h)⁻¹, en el día 0 (inmediatamente después de haber sido presurizados). El efecto de la presurización en la velocidad de producción de etileno durante el almacenamiento varió dependiendo del nivel y tiempo de presurización. En los mangos presurizados a 75 MPa, los frutos presurizados por 0 min, presentaron una disminución en la velocidad de producción de etileno durante los primeros 3 días, para posteriormente presentar un pico climaterico en el día 6 (Figura 4a). Los mangos presurizados por 5 min mostraron el valor más bajo de velocidad de producción de etileno 2 μL de etileno (kg*h)⁻¹, el cual permaneció bajo sin presentar el incremento típico de los frutos climatericos, asociado con el cambio de coloración. Los mangos

Figura 4.

Efecto de las altas presiones hidrostáticas en la velocidad de producción de etileno del mango 'Manila' durante el almacenamiento.

Figure 4. Effect of high hydrostatic pressures on the production rate of ethylene of 'Manila' mango during storage.



TV = Mango en madurez fisiológica.
TM = Mango en madurez comercial.

presurizados por 10 y 20 minutos mostraron un comportamiento similar al del fruto control, con un pico climatérico en el día 3, pero siempre con valores muy inferiores de producción de etileno.

Los mangos presurizados a 150 MPa, presentaron un comportamiento diferente. En este nivel de presión, los mangos presurizados por 5 y 10 minutos no mostraron pico climatérico, en tanto que los mangos presurizados por 0 minutos mostraron un pico climatérico a los 6 días y los mangos presurizados por 20 minutos lo presentaron a los 9 días, pero siempre con valores inferiores al del fruto control (Figura 4b).

Álvarez-Virrueta y col. (2012), reportaron la disminución en la velocidad de producción de etileno en mango 'Ataulfo' presurizado a 30 y 60 MPa por 10 y 20 min, con un menor efecto al presurizarlos a 15 MPa. Este efecto estuvo asociado con una disminución en la producción de la enzima ACC oxidasa que cataliza la producción de etileno. Por su parte, Ikeda y col. (2000), reportaron un comportamiento similar en rebanadas de manzana presurizadas en un rango de

50 a 300 MPa con intervalos de 50 MPa, las cuales disminuyeron considerablemente su producción de etileno después del presurizado. Igualmente, estos autores reportan una disminución considerable en la actividad de la ACC oxidasa que cataliza la producción de etileno, y por consiguiente, una disminución en la producción de etileno en frutos de albaricoque japonés (*Prunus mume* Sieb. et Zucc.) desde los 5 MPa de presurizado.

Cambios en la acidez titulable

La presurización modificó la acidez inicial de los mangos (Figuras 5a y 5b). Los mangos en madurez fisiológica, presurizados a 75 MPa, mostraron una acidez inicial mayor que los mangos control con el mismo grado de madurez. En tanto que, a 150 MPa únicamente el mango presurizado por 0 min (solo hasta alcanzar el nivel de presión) mostró un valor inferior de acidez titulable inicial.

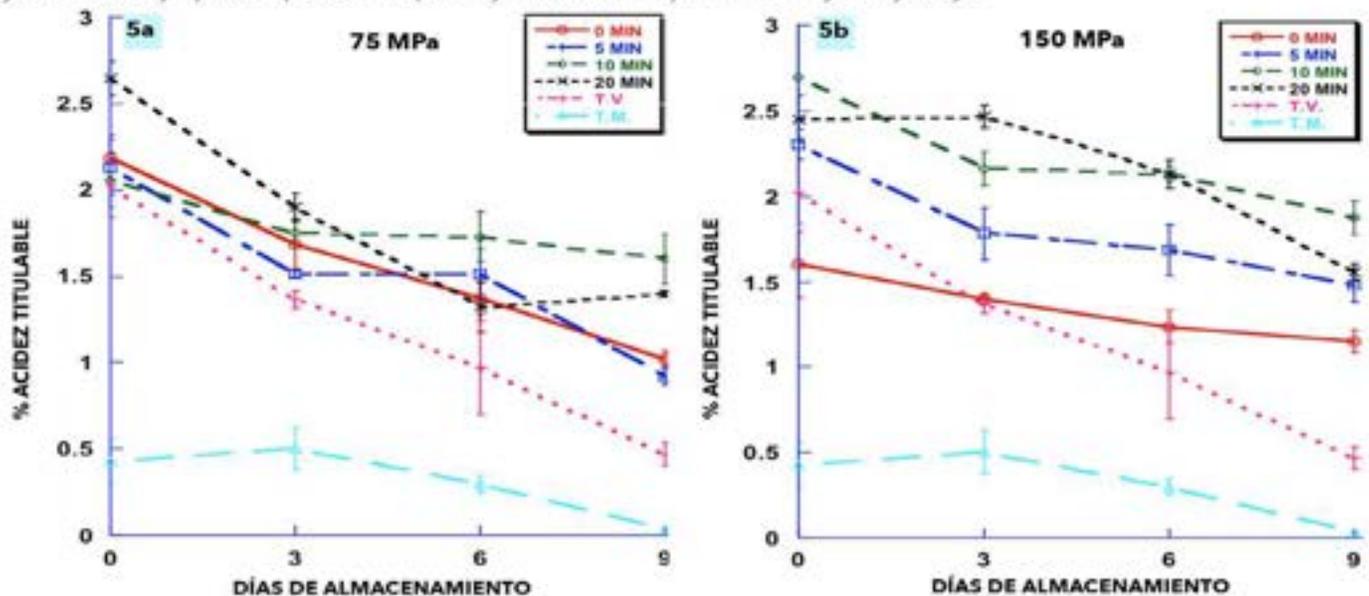
Durante el almacenamiento, la acidez titulable del mango control disminuyó gradualmente, pasando de 2.05 % a 0.52 % después de 9 días de almacenamiento, en tanto que, el mango en madurez comercial

disminuyó de 0.48 % a 0 % en el mismo período. Los mangos presurizados a 75 MPa mostraron una disminución de la acidez similar a la del mango control en madurez fisiológica, pero sus valores de acidez titulable siempre fueron mayores que el control. En el caso de los mangos presurizados a 150 MPa, también mostraron una tendencia a disminuir en su acidez titulable durante el almacenamiento, pero la pendiente mostrada fue menor que en el caso de los mangos presurizados a 75 MPa, indicando una mayor alteración en este cambio fisiológico, que se asocia con la calidad del fruto, ya que para el mango, la disminución de la acidez hasta cerca del 0.3 %, es uno de los principales parámetros que enmarcan el proceso de maduración y le confiere un sabor agradable (Osuna-García y col., 2002). La alteración en la disminución de la acidez titulable, podría estar asociada con los cambios en la velocidad de respiración inducidos por la presurización, ya que los ácidos orgánicos presentes en las frutas participan en el metabolismo respiratorio (Salisbury y Ross, 1992).

Figura 5.

Efecto de las altas presiones hidrostáticas en el porcentaje de acidez titulable del mango 'Manila' durante el almacenamiento.

Figure 5. Effect of high hydrostatic pressure in the percentage of titratable acidity of 'Manila' mango during storage.



TV = Mango en madurez fisiológica.
TM = Mango en madurez comercial.

pH

La presurización modificó el cambio del pH de los mangos durante el almacenamiento, en forma similar al cambio de acidez titulable (Figuras 6a y 6b). Los mangos control en estado de madurez fisiológica mostraron un pH inicial de 3.1, que aumentó gradualmente los primeros 3 días, y en forma más rápida a partir del día 3, coincidiendo con el pico climatórico o velocidad máxima de respiración de este fruto, para alcanzar un pH de 4.7 después de 9 días de almacenamiento; en tanto que el mango en madurez comercial mostró un pH inicial de 4.5 que incrementó a 5.6 en ese mismo período de tiempo. En los mangos presurizados a 75 MPa el incremento del pH se mantuvo gradual y con valores por debajo del pH mostrado en el fruto control; en los mangos presurizados a 150 MPa (Figura 6b) los valores de pH finales fueron aún menores. El cambio de

pH durante el almacenamiento, inducido por la presurización, parece estar asociado con los cambios respiratorios, en forma similar al observado con el cambio de acidez titulable durante el almacenamiento.

Sólidos solubles totales

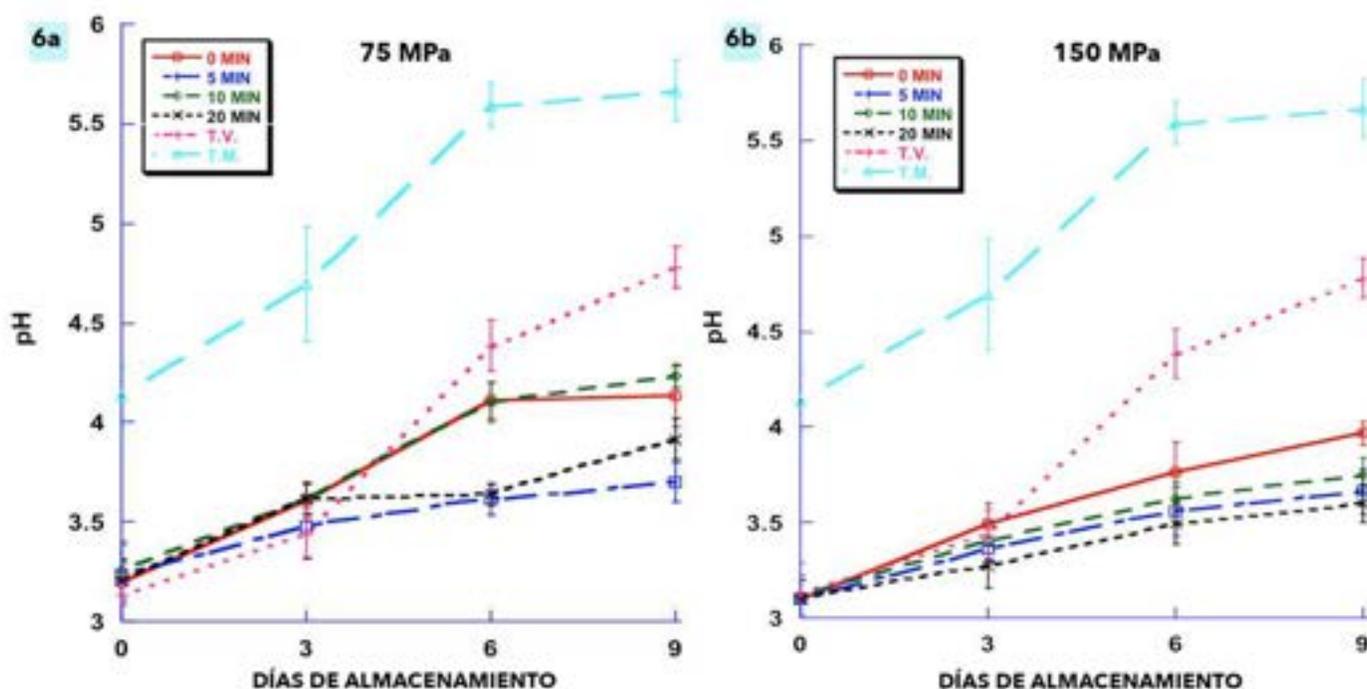
El contenido de sólidos solubles totales incrementó durante el almacenamiento de los mangos control en madurez fisiológica, pasando de 11.2 °Brix en el día 0, a 20.2 °Brix después de 9 días (Figura 7a). En tanto que, los mangos en madurez comercial se mantuvieron en el rango de los 17 a 20 °Brix. El incremento del contenido de sólidos solubles durante el almacenamiento o maduración, influye directamente en el dulzor del mango y con ello en su calidad organoléptica, junto con la disminución de la acidez titulable y pH (Osuna-García y col., 2002).

La presurización modificó la producción de sólidos solubles influenciada principalmente por el nivel de presión usada. Los mangos presurizados a 75 MPa (Figura 7a), mostraron un incremento en el contenido de sólidos solubles durante los primeros 3 a 6 días, similar al del mango control en madurez fisiológica, pero este incremento no se sostuvo e incluso disminuyó, y al término de los 9 días, el contenido de sólidos solubles no superó los 16 °Brix. En los mangos presurizados a 150 MPa (Figura 7b), se inhibió la capacidad de formar sólidos solubles, alcanzando valores que variaron entre 9 y 14 °Brix; en general, se observó que a mayor tiempo de presurizado menor producción de sólidos solubles totales se obtuvo. La alteración en la producción de sólidos solubles totales en los mangos presurizados, está asociada con la baja actividad fisiológica, manifestada por la disminución en la velocidad de

Figura 6.

Efecto de las altas presiones hidrostáticas en el pH del mango "Manila" durante el almacenamiento.

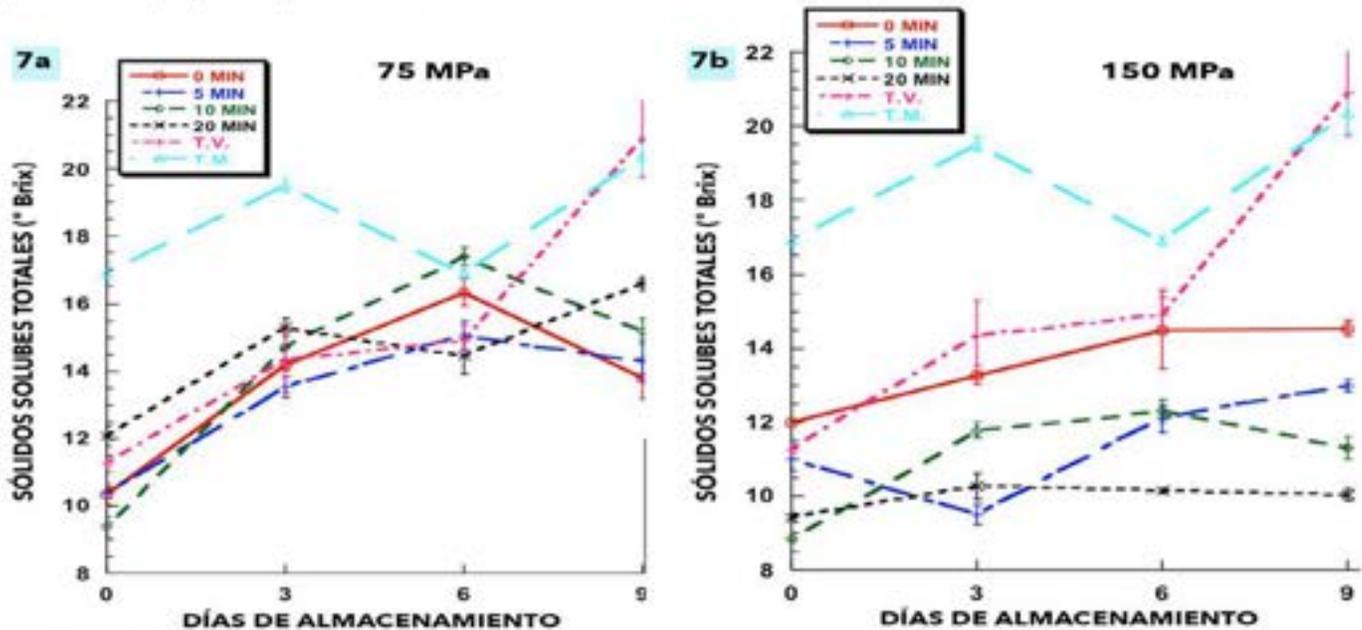
Figure 6. Effect of high hydrostatic pressures on the pH of "Manila" mango during storage.



TV = Mango en madurez fisiológica.
TM = Mango en madurez comercial.

Figura 7.

Efecto de las altas presiones hidrostáticas en el contenido de sólidos solubles totales del mango 'Manila' durante el almacenamiento.
 Figure 7. Effect of high hydrostatic pressures on the total soluble solids content of 'Manila' mango during storage.



TV = Mango en madurez fisiológica.
 TM = Mango en madurez comercial.

respiración y de producción de etileno, lo que causa poca conversión de sustratos hacia carbohidratos, y enmarca una madurez incompleta. Este fenómeno ha sido observado en puré, trozos o frutos completos presurizados. Boynton y col. (2002), reportaron una disminución considerable de los sólidos solubles totales en mango Keitt pre-cortado sometido a presurizado (600 MPa/1 min); Butz y col. (2002), reportaron la disminución de sacarosa durante el almacenamiento en puré de frambuesa presurizado (600 MPa/1 min/25°C); Ikeda y col. (2000), reportaron una disminución de los sólidos solubles totales en rebanadas de manzana y papaya sometidas a presurizado (100-600 MPa/10 min/25 °C); por otra parte Rastogi y col. (2000), en sus investigaciones sobre piña deshidratada reportan una disminución en los sólidos solubles de piñas previamente presurizadas (100-500 MPa/10 min/25°C).

Color interno

El color interno de los mangos 'Manila' control, en estado de madurez comercial, mostró muy poca variación

durante el almacenamiento, pasando de un valor inicial de matiz (Hue, H*), de 70.8 a 67.8, ambos valores en el rango del color anaranjado, característico de este fruto (Figura 8a). En tanto que, los mangos control en estado de madurez fisiológica, pasaron de un valor inicial de 85 en el día 0, a un valor de 76 en el día 9, lo que representa un cambio del color amarillo al color anaranjado, característico del fruto en madurez comercial. En los mangos presurizados a 75 MPa, se observó una tendencia a disminuir el valor del atributo H* durante el almacenamiento, pero sin alcanzar el valor del mango control en madurez fisiológica. Este efecto fue aun más notorio en los mangos presurizados a 150 MPa (Figura 8b). La alteración en la formación del color por efecto de la presurización ha sido reportada, en mango 'Ataulfo' (Álvarez-Virrueta y col., 2012).

Cambios en la firmeza

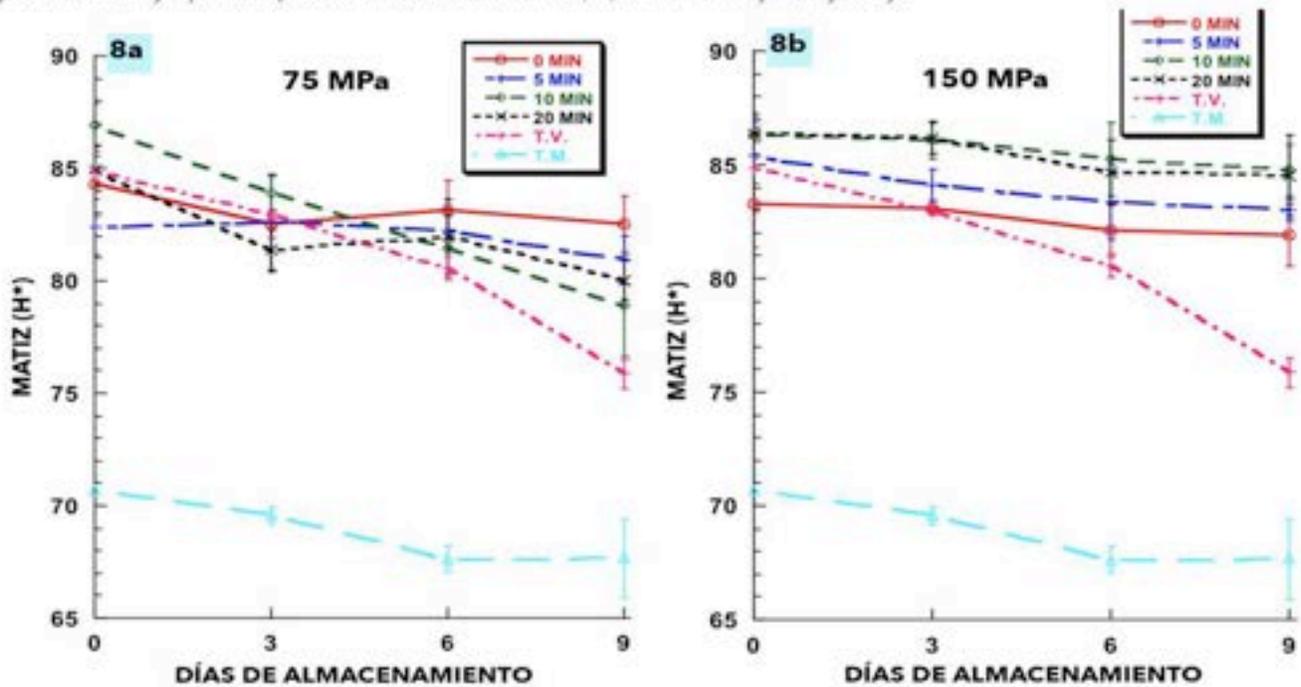
La firmeza de los mangos en madurez fisiológica disminuyó en forma gradual

y constante, pasando de una firmeza inicial de 13.5 kg/cm² en el día 0, a 0.5 kg/cm² después de 9 días de almacenamiento (Figura 9). Los mangos en madurez comercial no mostraron resistencia a la penetración, por lo que no pudo ser determinada la firmeza, dando valores constantes de 0 kg/cm².

En los mangos presurizados, la pérdida de firmeza mostró un comportamiento similar al del mango control en madurez fisiológica. Los mangos presurizados por 0 min mostraron valores iniciales de firmeza menores (13.5 kg/cm²) al del fruto control, en tanto que, los mangos presurizados por 5 minutos mostraron valores iniciales ligeramente superiores (15 kg/cm²). Después de los 9 días de almacenamiento, sólo los mangos presurizados por 0 y 5 minutos permanecieron con valores de firmeza superiores al control, cercanos a los 5 kg/cm². Por otra parte, en los mangos presurizados a 150 MPa (Figura 9b), se observó que sólo los mangos presurizados por 5 minutos mostraron un valor menor de firmeza

Figura 8.

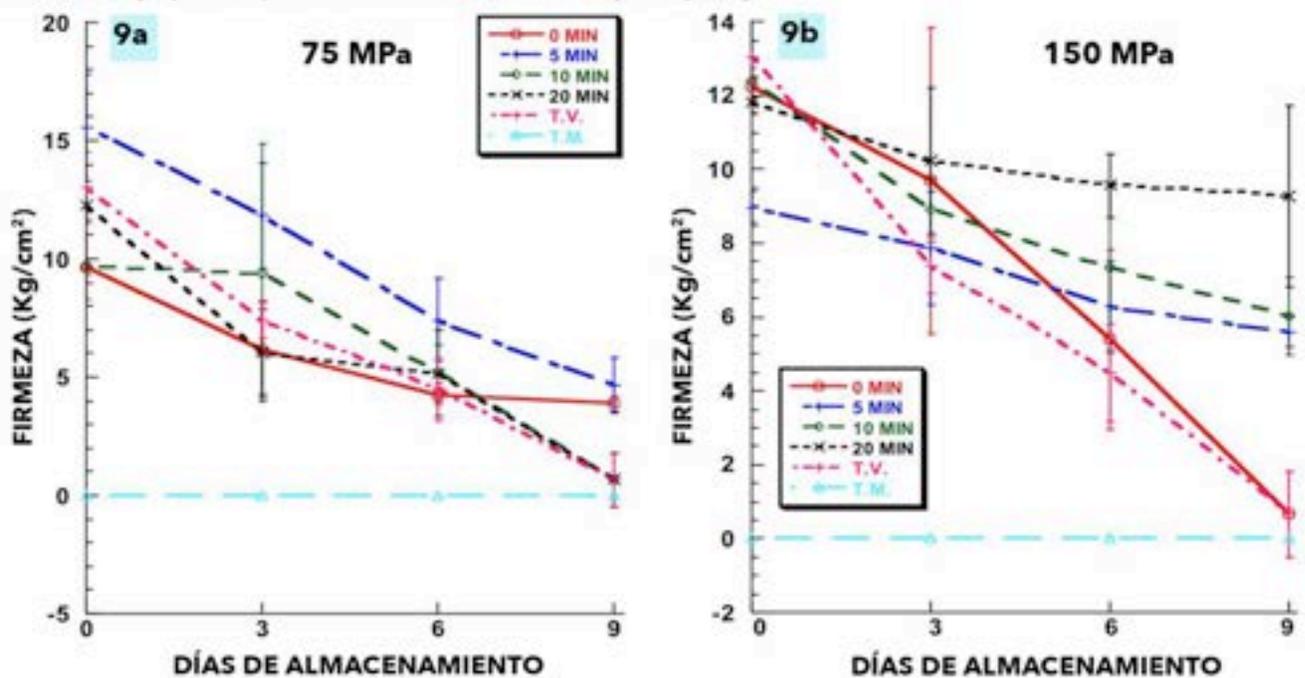
Efecto de las altas presiones hidrostáticas en el atributo de color matiz (Hue, H*) del mango 'Manila' durante el almacenamiento.
 Figure 8. Effect of high hydrostatic pressure on the color attribute Hue (H*) of 'Manila' mango during storage.



TV = Mango en madurez fisiológica.
 TM = Mango en madurez comercial.

Figura 9.

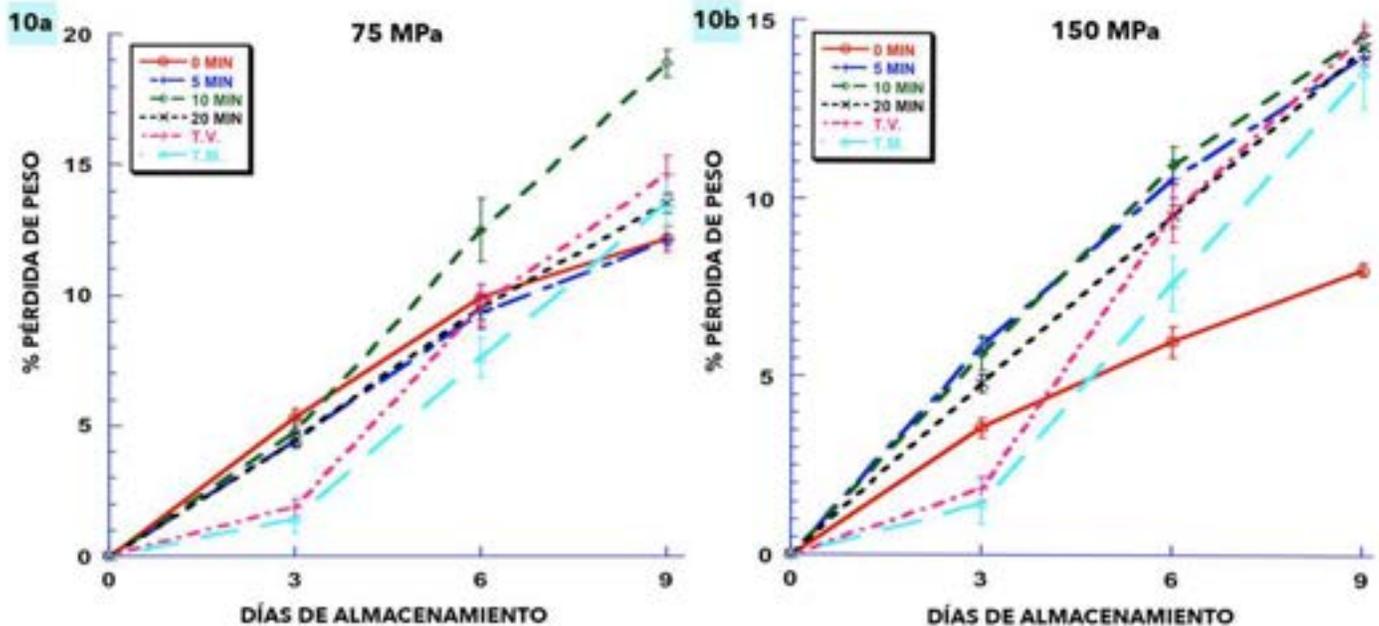
Efecto de las altas presiones hidrostáticas en la firmeza del mango 'Manila' durante el almacenamiento.
 Figure 9. Effect of high hydrostatic pressure on the firmness of 'Manila' mango during storage.



TV = Mango en madurez fisiológica.
 TM = Mango en madurez comercial.

Figura 10.

Efecto de las altas presiones hidrostáticas en la pérdida de peso del mango 'Manila' durante el almacenamiento.
Figure 10. Effect of high hydrostatic pressure on the on the weight of 'Manila' mango during storage.



TV = Mango en madurez fisiológica.
TM = Mango en madurez comercial.

que los mangos control. Durante el almacenamiento, sólo los mangos presurizados por 0 minutos mostraron un comportamiento similar al control, en tanto que, los mangos presurizados por 5, 10 y 20 minutos, mostraron valores de firmeza más altos, indicando que se alteró el proceso fisiológico que le da al mango la suavidad característica durante su maduración. Este cambio, en la firmeza final, puede estar asociado con la inhibición de la actividad de la enzimas pectinasas, inhibiendo la suavización del fruto.

El comportamiento del mango 'Manila' durante la presurización, fue diferente al del mango 'Ataulfo' reportado previamente, en el que se observó una mayor velocidad en la disminución de la firmeza de los mangos presurizados durante el almacenamiento (Álvarez-Virrueta y col., 2012).

Pérdida fisiológica de peso

Los mangos control en estados de

madurez fisiológica y comercial, presentaron una disminución constante de pérdida de peso durante el almacenamiento. Esta pérdida de peso fue más rápida en los mangos presurizados a 75 y 150 MPa durante los primeros 6 días (Figuras 10a y 10b). Sin embargo, en los mangos presurizados a 75 MPa el valor final de pérdida de peso de los mangos presurizados (11.5-13 %), fue menor que la pérdida de peso del mango control en madurez fisiológica (13.5 %) después de 9 días. Solo el mango presurizado por 10 minutos mostró una mayor pérdida de peso (19 %). En los mangos presurizados a 150 MPa, la pérdida de peso final fue similar a la que presentaron los mangos control en madurez fisiológica (14 %). Sólo el mango presurizado por 0 minutos, mostró una menor pérdida de peso, cercana al 8 %. La alteración en la modificación de la velocidad de pérdida de peso está asociada con la modificación de la estructura de la pared celular de las células de la cáscara del mango, causada por la presurización, lo

que dio como resultado en una mayor cantidad de agua perdida durante la respiración. Este comportamiento ha sido reportado previamente para mango 'Ataulfo' (Álvarez-Virrueta y col., 2012).

Cambios en la pulpa

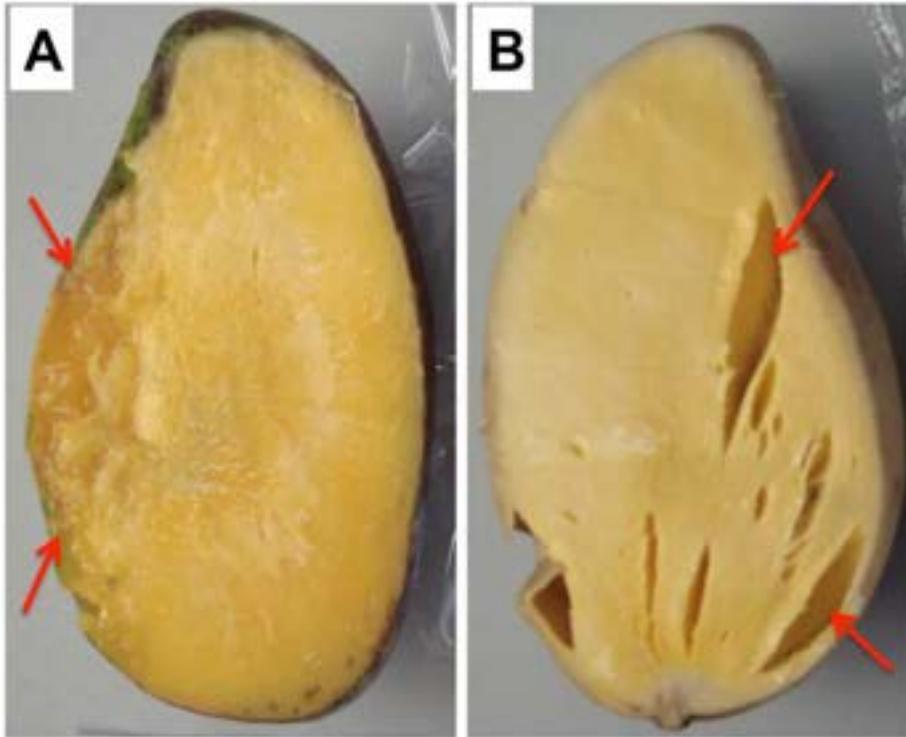
La pulpa de algunos de los frutos presurizados mostró la presencia de zonas con apariencia de gel (Figura 11a). Este fenómeno podría estar asociado con la ruptura de membranas celulares, lo que genera una micro redistribución del agua, acompañada por la gelatinización de biopolímeros celulares (Sila y col., 2008).

En algunos mangos presurizados se presentaron cavidades o hendiduras (Figura 11b), conocidas como tejido esponjoso y su presencia se ha reportado en mango 'Ataulfo' presurizado con altos niveles de presión (Álvarez-Virrueta y col., 2012). La formación del tejido esponjoso en mango 'Alfonso' se ha asociado con una disminución de la actividad de la ACC oxidasa, así como,

Figura 11.

Efecto de las altas presiones hidrostáticas en la apariencia interna de mangos 'Manila' en madurez fisiológica durante el almacenamiento.

Figure 11. Effect of high hydrostatic pressure in internal appearance of 'Manila' mango at physiological maturity during storage.



con alteraciones en el metabolismo del almidón, provocando una disminución en la concentración de azúcares (Nagamani y col., 2010). A este respecto, se ha reportado que los tratamientos de irradiación cuarentenaria pueden inducir el desarrollo de tejido esponjoso durante la maduración de mangos 'Alfonso' (Mercado-Silva, 2011).

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos indican claramente, que el mango 'Manila' es muy susceptible a los tratamientos de presurización que se han propuesto como método cuarentenario alternativo para el control de las moscas de la fruta *Anastrepha ludens* y *A. obliqua* que infectan a los mangos. El método cuarentenario propuesto implica procesar los mangos a 90 MPa por 9 min a 45 °C, sin embargo, el mango 'Manila' presenta

alteraciones fisiológicas severas incluso a 75 MPa por 5 min. Estas alteraciones incluyen cambios en la velocidad de respiración, producción de etileno involucradas en los procesos de maduración y que se manifiestan como cambios en la apariencia externa e interna, color de la pulpa, acidez y nivel de dulzura que determinan su aceptación organoléptica, así como una mayor pérdida de peso. El efecto negativo de las altas presiones estuvo asociado principalmente al nivel de presión y posteriormente al tiempo de presurizado. Los daños inducidos estuvieron asociados con la descompartmentalización de la estructura celular y la afectación de la permeación de las membranas celulares. Pero, también se observaron cambios asociados con los procesos metabólicos, lo que indica desnaturalización de enzimas, modificando su función

biológica. Al comparar los presentes resultados con otros reportados en la literatura, se puede concluir que el mango 'Manila' pareció verse más afectado por los procesos de presurización que los mangos 'Ataulfo'. Sin embargo, los mangos variedad 'Tommy Atkins' parecen mostrar mayor resistencia a las APH.

REFERENCIAS

- Álvarez-Virrueta, D. R., García-López, E. G., Montalvo-González, E., Ramírez, J. A., Mata-Montes de Oca, M., and Tovar-Gómez, B. (2012). Effect of high hydrostatic pressure on postharvest physiology of 'Ataulfo' mango. *CyTA Journal of Food*, 10 (3): 173-181.
- Alviar, J. y Torres S. C. X. (2002). *Manual Agropecuario*. Biblioteca del campo. Fundación hogares juveniles campesinos. Tomo II. Bogotá Colombia: Editorial IBALPE. 1192Pp.
- AOAC (1990). *Official Methods of Analysis*. (Ed. Kenneth H.) 15th. Edition. Published by The Association of Official Analytical Chemists. Vol II. Arlington, Virginia, U.S.A. 1298 Pp.
- Ben-Yehoshua, S., Beaudry, R. M., Fishman, S., Jayanty, S. y Mir, N. (2005). *Modified atmosphere packaging and controlled atmosphere storage*. En: Ben-Yehoshua, S. (Ed.). *Environmentally friendly technologies for agricultural produce quality* (61-112). Boca Raton, FL, USA. Taylor and Francis Group LLC.
- Boyton, B. B., Sims, C. A., Sargent, S., Balaban, M. O. y Marshall, M. R. (2002). Quality and stability of pre-cut mangos and carambolas subjected to high pressure processing. *Journal of Food Science*, 67(1): 409-415.
- Butz, P., Edenharder, R., Fernandez,

- G.A., Fister, H., Merkel, C. y Tauscher, B. (2002). Changes in functional properties of vegetables induced by high pressure treatment. *Food Research International*. 35: 295-300.
- Candelario-Rodríguez, H. E., Hurtado-González, M., Morales-Castro, J., Velázquez, G., Ramírez, J. A., Loera-Gallardo, J., and Vázquez, M. (2009). Efficacy of high hydrostatic pressure as a quarantine treatment to improve the quality of mango fruits infested by the Mexican fly *Anastrepha ludens*. *CyTA Journal of Food*. 7: 135-142.
- Candelario-Rodríguez, H. E., Velázquez, G., Castañón-Rodríguez, J. F., Ramírez, J. A., Montoya, P., and Vázquez, M. (2010). Resistance of Mexican Fruit Fly to Quarantine Treatments of High Hydrostatic Pressure Combined with Heat. *Foodborne Pathogens and Disease*. 7(8): 959-966.
- Castañón-Rodríguez, J. F., Vargas-Ortiz, M. A., Montoya, P., García, H. S., Velázquez, G., Ramírez, J. A., and Vázquez, M. (2011). Resistance of Mexican Fruit Fly to Quarantine Treatments of High-Pressure Processing Combined with Cold. *Foodborne Pathogens and Disease*. 8(7): 815-23.
- Cheftel, J. C. (1995). High pressure, microbial inactivation and food preservation. *Comptes Rendus de l'Academie d'Agriculture*. 81(1): 13-38.
- Ikeda, F., Baba, T., Como, G., Ohtsubo, T. y Lizada, M. C. C. (2000). Effect of hydrostatic pressure on postharvest physiology in fruit. *Acta Horticulturae*. 518: 101-106.
- Krebbbers, B., Matser, A. M., Koets, M., and Van-den-Berg, R. W. (2002). Quality and storage-stability of high-pressure preserved green beans. *Journal of Food Engineering*. 54: 27-33.
- Mercado-Silva, E. (2011). Ionizing radiation as quarantine treatments in fruits. En J.A. Ramírez, and M. Vázquez (Eds.), *Advances in post-harvest treatments and fruit quality and safety* (pp. 19-30). Hauppauge, NY: Nova Science Publishers.
- Mitcham, E. J. y McDonald, R. E. (1992). Cell Wall modification during ripening of Keitt and Tommy Atkins mango fruit. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 117(6): 919-924.
- Nagamani, J. E., Shivashankara, K. S., and Roy, T. K. (2010). Role of oxidative stress and the activity of ethylene biosynthetic enzymes on the formation of spongy tissue in 'Alphonso' mango. *Journal of Food Science and Technology-Mysore*. 47: 295-299.
- NMX-FF-014-1982 (1982). Productos alimenticios no industrializados para uso humano. Fruta fresca. Determinación de la resistencia a la penetración. Normas mexicanas. Dirección general de normas. México. 3 Pp.
- Ortega-López, V. G., Ramírez, J. A., Tovar-Gómez, B., Mata-Montes-de-Oca, M., Montalvo-González, E. (2013). Effects of high hydrostatic pressure on antioxidants content of 'Ataulfo' mangoes. Mayo, 2012. *Ciencia e Tecnología Alimentarie (Brasil)*. 33 (3): 561-568.
- Osuna-García, J. A. Guzmán-Robles, M. L., Tovar-Gómez, B., Mata-Montes-de-Oca, M., Vidal-Martínez, V. A. (2002). Calidad del mango 'Ataulfo' producido en Nayarit, México. *Revista Fitotecnia Mexicana*. 25 (4): 367-374.
- Préstamo, G. y Arroyo, G. (1998). High hydrostatic pressure effects on vegetable structure. *Journal of Food Science*. 63(5): 878-881.
- Ramírez, J. A., Castañón-Rodríguez, J. F., Velázquez, G., Montoya, P., and Vázquez, M. (2012). Resistance of West Indian fruit fly *Anastrepha obliqua* Macquart to quarantine treatments of high hydrostatic pressure combined with cold. *Food and Bioprocess Technology*. 5 (6): 2540-2547.
- Rastogi, N. K., Angersbach, A., Niranjana, K. y Knorr, D. (2000). Rehydration Kinetics of high pressure pretreatment and osmotically dehydrated pineapple. *Journal Food Science*. 65: 838-841.
- Salisbury, B. F. y Ross, C. W. (1992). *Plant Physiology*. 4th ed. Wadsworth, Belmont: ISBN 0534151620.
- Saltveit, M. E. y Yang, S. F. (1987). *Ethylene*. En Rivier, L. and Crozier, A. (eds.) *Principles and Practices of Plant Hormone Analysis* (Chapter 6. 367-401. Vol. 2). New York: Academic Press.
- Shimada, S., Andou, M., Naito, N., Yamada, N., Osumi, M., and Hayashi, R. (1993). Effects of hydrostatic pressure on the ultrastructure and leakage of internal substances in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 40: 123 - 131.
- Sila, D. N., Duvetter, T., De-Roeck, A., Verlent, I., Smout, C., Moates, G., Hills, B., Waldron, K., Hendrickx, M., and Van-Loey, A. (2008). Texture changes of processed fruits and vegetables: potential use of high-pressure processing. *Trends in Food Science & Technology*. 19(6): 309-319.
- Slaughter, D. C. (2009). *Nondestructive Maturity Assessment Methods for Mango: A Review of Literature and Identification of Future Research Needs*. Biological and Agricultural Engineering, University of California, Davis. 18Pp.
- Vargas-Ortiz, M. A., Quintana-Castro, R., Oliart-Ros, R. M., De la Cruz-Medina, J., Ramírez de León, J. A., García, H. S. (2013a). High hydrostatic pressure induces synthesis of heat-shock proteins and trehalose-6-phosphate synthase in *Anastrepha ludens* larvae. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*. 82(4):196-212.
- Vargas-Ortiz, M. A., De la Cruz-Medina, J., Espinosa de los Monteros, J. J., Oliart, R. M., Rebolledo-Martínez, A., Ramírez de León, J. A., García, H. S. (2013b). Effect of High Hydrostatic Pressure on the Physiology of 'Manila Mango. *Plant Foods for Human Nutrition*. 68:137-144.

ESTUDIO PRELIMINAR PARA INVESTIGAR *SALMONELLA* SP. Y *E. COLI* O157:H7 EN CARNE MOLIDA DE RES, DE VENTA EN SUPERMERCADOS EN LA CIUDAD DE PUEBLA, MÉXICO

PRELIMINARY STUDY TO INVESTIGATE *SALMONELLA* SP. AND *E. COLI* O157:H7
IN GROUND BEEF SOLD IN SUPERMARKETS IN PUEBLA CITY, MEXICO

Carlos Cabrera-Maldonado^{1*}, Gloria León-Tello¹, Fausto Tejeda-Trujillo¹,
Belén Ramírez-Juárez², Marcos Flores-Encarnación³

¹Depto. de Microbiología, Facultad de Ciencias Químicas, Integrante del CA-38 en Microbiología, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. ²Especialidad en Tecnología e Inocuidad Microbiana de los Alimentos, Facultad de Ciencias Químicas, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. ³Laboratorio de Microbiología Molecular y Celular, Facultad de Medicina, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Boulevard. 14 Sur y Av. San Claudio, Colonia Jardines de San Manuel, Puebla, Puebla, México, C.P. 72570.

*Autor para correspondencia: carlos.cabrera@correo.buap.mx

Fecha de recepción: 26 de marzo de 2013 / Fecha de aceptación: 27 de noviembre de 2013.

RESUMEN

Se ha reconocido que la presencia de bacterias patógenas en alimentos de origen bovino constituye un riesgo para la salud de las personas, debido a que estos microorganismos son capaces de generar problemas gastrointestinales. Estas patologías son una de las primeras causas de consulta médica y de muerte en México y en el mundo. El presente estudio buscó investigar la presencia de *Salmonella* sp. y *Escherichia coli* O157:H7 en 20 muestras de carne molida de res, adquiridas de manera aleatoria en supermercados de

la ciudad de Puebla, Puebla, México. Las metodologías utilizadas fueron los procedimientos descritos en la Normas Oficiales Mexicanas: bacterias mesofílicas aerobias (NOM-092-SSA1-1994) y *Salmonella* sp. (NOM-114-SSA1-1994), que incluyeron las etapas de pre-enriquecimiento, enriquecimiento selectivo, inoculación en medios selectivos y diferenciales e identificación bioquímica y serológica. Aunque no se identificaron cepas de *Salmonella* sp. ni de *E. coli* O157:H7, se recomienda continuar con la búsqueda exhaustiva de estas bacterias o de otros

agentes patógenos, no sólo en la carne molida de res, sino en otros productos derivados del ganado bovino, con la implementación de técnicas moleculares.

PALABRAS CLAVE: carne molida, infecciones gastrointestinales, salmonelosis, colitis hemorrágica, síndrome urémico hemolítico.

ABSTRACT

It is accepted that the presence of pathogen bacteria in food products made out of bovine is a human health risk because

these microorganisms are capable of producing gastrointestinal diseases. This kind of pathology is the main cause of medical consultation and death in Mexico and the world. The present study sought to find the presence of *Salmonella* sp. and *Escherichia coli* O157:H7 in 20 samples of ground beef, obtained at random in supermarkets in the city of Puebla, Mexico. The methodologies used were the ones described in the Mexican Official Standards: aerobic mesophilic bacteria (NOM-092-SSA1-1994) and *Salmonella* sp. (NOM-114-SSA1-1994), including the steps of pre-enrichment, selective enrichment, differential and enriched media inoculation, biochemical and serological identification. Even though neither *Salmonella* sp. nor *E. coli* O157:H7 strains were identified, the use of molecular techniques is recommended to make an exhaustive search of these pathogen agents, not only in ground beef, but also in other cattle-derived products.

KEYWORDS: Ground beef, gastrointestinal infections, salmonellosis, hemorrhagic colitis, hemolytic uremic syndrome.

INTRODUCCIÓN

Actualmente, en la ciudad de Puebla, existe poca o ninguna información referente a brotes de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA), producidos por *Salmonella* sp. y *E. coli* O157:H7 (Gallegos y col., 2009) en carne de res en canal. La contaminación de los alimentos de origen animal como la carne, de manera particular la carne molida, se puede ver favorecida por el tipo de nutrientes que contiene, la actividad del agua, y el hecho de que proviene de recortes sumamente manipulados, en los cuales existe una gran área superficial, creando condiciones para el desarrollo de microorganismos patógenos como *Salmonella* sp., *E. coli*, *Campylobacter* sp. y *Listeria* sp. (Franco y col., 2001; Jure y col., 2010; Ferens y Hovde, 2011; León y col., 2011; McCollum y col., 2012; Vally y col., 2012; Soborg y col., 2013), por tanto, debe evitarse cualquier deficiencia en la manipulación, conservación, transporte, distribución y comercialización. En este sentido, la Organización Mundial de la Salud (OMS) (2011), declara anualmente miles de casos

de enfermedades de origen microbiano causadas por la contaminación de alimentos, las cuales pueden tener un desenlace fatal o convertirse en un problema de salud pública, y pese al elevado número de éstas, tan sólo se refleja un porcentaje menor de los casos que se producen en diversos países. Debido a lo anterior, la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) y la OMS, han instado a todos los países a que refuercen sus sistemas de inocuidad alimentaria y adopten medidas de vigilancia más rigurosas con respecto a la producción y el comercio de alimentos (ECDC, 2011).

Salmonella sp. es una bacteria patógena perteneciente a la familia Enterobacteriaceae, es un bacilo Gram negativo, anaerobio facultativo, móvil por flagelos peritricos, con fimbrias y pilis, algunas forman una microcápsula y no producen esporas, catalasa positiva, oxidasa negativa, fermenta glucosa, con producción de gas, pero no fermenta la lactosa, ni sacarosa, descarboxila arginina, lisina y ornitina, crece en citrato y produce H₂S y no hidroliza la urea (Fernández, 2000; Harvey y col., 2008; Brooks y col., 2011). Las cepas pueden permanecer viables en diferentes condiciones ambientales, sobreviven a la refrigeración, congelación y pueden resistir al calentamiento (Secretaría de Salud, 1994d; BAM, 2007; Harvey, 2008). Según el Centro de Control de Enfermedades (CDC), aproximadamente 40,000 casos de salmonellosis son reportados en los Estados Unidos cada año (Almeida y col., 2013). La transmisión es usualmente a través de manipuladores de alimentos, carnes y huevos no cocinados, siendo el pollo el mejor reservorio (Jeffrey, 2010; León y col., 2011).

Los síntomas suelen comenzar de 6 a 72 horas después de la infección, generalmente duran entre 4 a 7 días, y puede eventualmente provocar dolor de cabeza, fiebre, dolor abdominal, diarrea, vómito, erupción máculo-papulosa en pecho y espalda (Jeffrey, 2010). Los síntomas de artritis pueden aparecer de 3 a 4 semanas después de los síntomas agudos. Los enfermos presentan un período de convalecencia entre 1 y 8 semanas. Las formas clínicas pueden agruparse en: 1) infecciones asintomáticas agudas; 2) gastroenteritis aguda; 3) bacteremia con o

sin supuración local; 4) fiebre tifoidea y 5) estado de portador crónico asintomático (Jeffrey, 2010; Brooks y col., 2011). Todas las personas son susceptibles de adquirir esta enfermedad, pero los síntomas son más severos en la población pediátrica, de la tercera edad y los pacientes inmunocomprometidos. La infección puede ocasionar enfermedades crónicas y se debe evitar que las personas con síntomas de salmonellosis o portadores, manipulen alimentos.

Escherichia coli es una bacteria que normalmente vive en el intestino del ser humano y animales, aunque la mayoría de las variedades de esta bacteria son inocuas (no son patógenas). Prácticamente, desde su descubrimiento se ha reconocido su participación en las enfermedades humanas. Habitualmente, *E. coli* O157:H7 produce la colitis hemorrágica y daño renal, que requiere una baja dosis mínima infectante (10-100 células), es uno de los patógenos que mayor atención ha recibido, y hacia los cuales la industria de alimentos ha reenocado su atención como una causa de morbilidad-mortalidad significativas (Jure y col., 2010; Evans, 2011; Vally y col., 2012; Ramoneda, 2013). La presencia de *E. coli* O157:H7 en carne molida de res constituye un factor de riesgo para el consumidor (Narváez y col., 2005; Marzocca y col., 2006; Kasnowski y col., 2008; Jure y col., 2010; Phang y Bruhn, 2011; Cardozo y col., 2012). La capacidad toxigénica de las cepas es necesaria para que el paciente desarrolle colitis hemorrágica y diarrea con sangre, ya que la citotoxina Stx es el principal mecanismo de virulencia (Varela y col., 2008; Jure y col., 2010; Cardozo y col., 2012; Ramoneda y col., 2013). El período de incubación es de 3 a 9 días, los síntomas que presenta el paciente incluyen cólicos severos (dolor abdominal) y diarrea, que inicialmente es líquida y luego va acompañada con sangre, también puede producir vómitos, fiebre que suele ser baja o no manifestarse. La enfermedad puede conducir a una pérdida permanente de la función renal denominada síndrome urémico hemolítico (SUH) (Vally y col., 2012; Soborg, 2013).

El presente estudio buscó investigar la presencia de *Salmonella* sp. y *E. coli*

0157:H7 en carne molida de res de venta en supermercados en la ciudad de Puebla, Puebla, México (Figura 1).

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un estudio prospectivo, descriptivo y transversal. Previamente, se elaboró un padrón que incluyó 76 tiendas de autoservicio identificadas como punto de venta de carne molida de res, durante el periodo de mayo a julio de 2011, debido a que la carne en esta presentación se puede adquirir con facilidad a un precio accesible en cualquier punto de venta de carne, y se consume en todas las épocas del año. Con el propósito de tener una muestra representativa, mediante el uso de las Tablas Military Std (Secretaría de Salud, 1991) y la realización de un sorteo aleatorio, se seleccionaron 20 establecimientos, donde se compraron las muestras a analizar (una muestra por cada establecimiento); las muestras de carne molida con su empaque fueron transportadas en condiciones de refrigeración, en un lapso no mayor a 3 horas (Secretaría de Salud, 1994a) al laboratorio, para determinar la calidad sanitaria mediante los recuentos de bacterias mesófilas aerobias e investigar la presencia de *Salmonella* sp. y *E. coli* 0157:H7 en estos productos. Los criterios de inclusión fueron: 1) Muestras de carne molida de res que estuvieran empaquetadas con algún material de protección; 2) Que fueran adquiridas en tiendas de autoservicio; 3) Seleccionadas en el sorteo; 4) De venta en la ciudad de Puebla, Puebla, México. Se descartaron aquellas muestras provenientes de una zona geográfica distinta a la establecida, de venta en carnicerías establecidas o mercados populares, que hubieran sobrepasado el límite de tiempo para ser procesadas y que por algún motivo se contaminaran por factores externos durante el transporte. La interpretación de los resultados se realizó mediante una estadística descriptiva.

Para el recuento de bacterias mesófilas aerobias (BMA), se procesaron las muestras mediante los métodos descritos en las NOM (Secretaría de Salud, 1994c). Se pesaron asepticamente 10 g de cada muestra y se procedió a la homogenización en 90 ml de agua peptonada, realizándose diluciones 10^1 a 10^6 (Secretaría de Salud, 1994b). Se transfirió una alícuota de 1 ml de cada dilución a cajas

Figura 1.

El consumo de carne molida de bovino contaminada que no sea sometida a un proceso eficiente de cocción puede ser vehículo para transmitir patógenos gastrointestinales como *Salmonella* sp. y/o *E. coli* 0157:H7.

Figure 1. The consumption of contaminated ground beef meat that is not subjected to an efficient cooking process can be a vehicle for transmitting gastrointestinal pathogens such as *Salmonella* sp. and / or *E. coli* 0157: H7.



Petri estériles y se adicionó agar métodos estándar estéril (Bioxon, Cuautitlán Izcalli, México). Se procedió a homogenizar las muestra con el medio de cultivo, dejando que gelificaran las placas y se incubaron durante 24 ± 2 h a 35°C ; posteriormente, se realizaron los recuentos correspondientes. Para la interpretación de los resultados se informó: recuento de BMA (ufc/g).

En la investigación de *Salmonella* sp., los análisis microbiológicos se realizaron mediante los métodos oficiales descritos en las NOM (Secretaría de Salud, 1994d). Se pesaron asepticamente 25 g de cada muestra y se procedió a la homogenización en 225 ml de caldo lactosado (Bioxon, Cuautitlán Izcalli, México), se incubó

durante 24 ± 2 h a 35°C . Luego, se transfirió una alícuota de 1 ml del crecimiento en caldo lactosado a tubos, conteniendo 10 ml de caldo selenito de sodio (Bioxon, Cuautitlán Izcalli, México), caldo tetrionato sin verde brillante (Bioxon, Cuautitlán Izcalli, México), adicionado de una solución yodo-yoduro y Rappaport-Vassiliadis R10 Broth (Difco™, Sparks, MD USA). Se incubaron 42 ± 2 h a 35°C , para favorecer el crecimiento de *Salmonella* e inhibir a otras bacterias presentes en las muestras. Se realizó la inoculación en placas de agar *Salmonella* y *Shigella* (Bioxon, Cuautitlán Izcalli, México), agar verde brillante (Bioxon, Cuautitlán Izcalli, México), agar XLD (Bioxon, Cuautitlán Izcalli, México) y agar sulfito de bismuto (Bioxon, Cuautitlán Izcalli, México). Se incubaron 24 ± 2 h a 35°C ; posteriormente, se examinaron las placas para investigar la presencia de colonias típicas de *Salmonella* sp. lactosa negativas y productoras de H_2S ; para la identificación bioquímica, se utilizaron los ensayos primarios como agar de hierro y triple azúcar TSI (Bioxon, Cuautitlán Izcalli, México), agar de hierro y lisina LIA (Bioxon, Cuautitlán Izcalli, México), y las siguientes pruebas complementarias: catalasa, oxidasa (BBL, Sparks, MD USA), medio MIO (Bioxon, Cuautitlán Izcalli, México) agar citrato de Simmons (Bioxon, Cuautitlán Izcalli, México) y agar urea. Para la interpretación de los resultados se informó: presencia o ausencia de *Salmonella* sp.

La detección de *E. coli* 0157:H7, se realizó de acuerdo al procedimiento descrito por Rivas y col. (2008). Se pesaron asepticamente 65 g de cada muestra, y se realizó un enriquecimiento con 585 ml de caldo lauril sulfato (Bioxon, Cuautitlán Izcalli, México). Se incubó 42 ± 2 h a 35°C , para promover el desarrollo de bacterias "patógenas que se encuentren en bajo número a partir de muestras de alimentos donde hay una elevada concentración de microorganismos comensales" (Rivas y col., 2008). Para la inoculación en medios selectivos y diferenciales, se usaron placas de agar Mac Conkey (Bioxon, Cuautitlán Izcalli, México), agar Mac Conkey sorbitol (Difco, Sparks, MD USA) suplementado con telurito de cefixime; posteriormente, se implementó el uso de CHROMagar™ para la identificación presuntiva de *E. coli* 0157:H7 incubando 24 ± 2 h a 35°C . Se

realizó la identificación visual de las colonias de *E. coli*, siendo lactosa positiva en agar Mac Conkey, no fermentadoras de sorbitol en placas de agar Mac Conkey sorbitol, y por el color malva en CHROMagar™. Las cepas presuntivas de *E. coli* O157 fueron inoculadas para su identificación bioquímica en agar de hierro y triple azúcar (TSI) (Bioxon, Cuautitlán Izcalli, México), agar de hierro y lisina (LIA) (Bioxon, Cuautitlán Izcalli, México), medio MIO (Bioxon, Cuautitlán Izcalli, México), agar citrato de Simmons (Bioxon, Cuautitlán Izcalli, México) y agar urea, catalasa, oxidasa (BBL, Sparks, MD USA). Para la interpretación de los resultados se informó: presencia o ausencia de *E. coli* O157:H7.

En la estandarización de las metodologías, se procesaron tres muestras de carne molida de res adquiridas en un mercado al sur de la ciudad de Puebla. De este ensayo, se recuperó una cepa sugestiva de *Salmonella* sp., la cual fue identificada por los ensayos bioquímicos propuestos. Posteriormente, fue confirmada en el equipo miniAPI 20E bioMérieux, obteniéndose un 99.9 % de certeza en el resultado. Además, se identificaron colonias de *E. coli*, lactosa positiva en agar Mac Conkey, y no fermentadoras de sorbitol en placas de agar Mac Conkey sorbitol. Para la confirmación por PCR, las cepas fueron enviadas al Departamento de Salud Pública del Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias de la Universidad de Guadalajara, y al Laboratorio de Bacteriología Intestinal del Departamento de Infectología del Hospital "Federico Gómez" de la ciudad de México. Se realizó la prueba de aglutinación con suero polivalente O157, resultando negativas ambas pruebas a *E. coli* O157:H7. Adicionalmente, se realizaron los ensayos de sensibilidad antimicrobiana a las cepas enviadas, presuntivas de EHEC.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La calidad sanitaria de la carne molida de res analizada, reflejó una carga microbiana elevada. En todas las muestras analizadas, los recuentos de BMA oscilaron entre 500 000 ufc/g (5.7 log ufc/g) como valor mínimo y 10'000 000 ufc/g (7.0 log ufc/g) como valor máximo, presentando un valor promedio y desviación estándar de 6.5 ± 0.4 log ufc/g. Resultados de BMA similares a los obtenidos en el

presente estudio fueron reportados por Arthur y col. (2010) y Phillips y col. (2012). Una carga microbiana elevada puede estar acompañada de la presencia de microorganismos patógenos en los alimentos. Sin embargo, en el presente estudio no se detectó la presencia de *Salmonella* sp. mediante el empleo de ensayos bioquímicos primarios y complementarios: (lactosa -, producción de H₂S en TSI y LIA; lisina +; movilidad +; indol -; ornitina +; citrato + y urea -). Es importante señalar que el 65 % de las cepas aisladas fueron productoras de H₂S, pero en los medios de cultivos selectivos y diferenciales utilizados, se descartó que fueran *Salmonella* sp., ya que las características bioquímicas no correspondían a esta especie. Sin embargo se identificó 25 % (5/20) *Proteus vulgaris* (producción de

H₂S en TSI y LIA, desaminación de lisina, indol + y urea +); 10 % (2/20) *Proteus mirabilis* (producción de H₂S en TSI y LIA, desaminación de lisina, indol - y urea +) y 30 % (6/20) a *Citrobacter freundii* (producción de H₂S en TSI y LIA, lisina -, indol - y urea -). Además, de otras enterobacterias como *Klebsiella* sp. 2/20 (10 %), *Enterobacter* sp. 3/20 (15 %) y *E. coli* no O157 2/20 (10 %).

En la identificación de *E. coli* O157:H7, a pesar del desarrollo de colonias lactosa positivas en agar Mac Conkey, no hubo crecimiento de colonias sorbitol negativas en agar Mac Conkey sorbitol, ni colonias color malva en CHROMagar™, que refieran la identificación preliminar de esta bacteria, como lo han reportado otros investigadores (Hirvonen y col., 2012) (Tabla 1).

Tabla 1.

Resultado de los análisis microbiológicos realizados a las muestras de carne molida de res de venta en supermercados en la ciudad de Puebla, Puebla, México.

Table 1. Microbiological analysis results carried out on samples of ground beef sold in supermarkets in the city of Puebla, Puebla, México.

Número de establecimiento	BMA log (ufc/g)	<i>Salmonella</i> sp	<i>Escherichia coli</i> O157:H7	Otras bacterias aisladas
1	6.2	Ausencia	Ausencia	<i>Proteus vulgaris</i>
2	6.9	Ausencia	Ausencia	<i>Enterobacter aerogenes</i>
3	6.7	Ausencia	Ausencia	<i>Citrobacter freundii</i>
4	6.9	Ausencia	Ausencia	<i>Citrobacter freundii</i>
5	7	Ausencia	Ausencia	<i>Citrobacter freundii</i>
6	5.7	Ausencia	Ausencia	<i>Proteus vulgaris</i>
7	6.8	Ausencia	Ausencia	<i>Klebsiella</i> sp
8	6	Ausencia	Ausencia	<i>Citrobacter freundii</i>
9	6.6	Ausencia	Ausencia	<i>Klebsiella</i> sp
10	6.6	Ausencia	Ausencia	<i>Enterobacter aerogenes</i>
11	6.9	Ausencia	Ausencia	<i>Proteus mirabilis</i>
12	6.6	Ausencia	Ausencia	<i>E. coli</i>
13	6.7	Ausencia	Ausencia	<i>Proteus vulgaris</i>
14	7	Ausencia	Ausencia	<i>Proteus vulgaris</i>
15	6	Ausencia	Ausencia	<i>E. coli</i>
16	6.3	Ausencia	Ausencia	<i>Proteus vulgaris</i>
17	6.6	Ausencia	Ausencia	<i>Citrobacter freundii</i>
18	6.6	Ausencia	Ausencia	<i>Proteus mirabilis</i>
19	6.5	Ausencia	Ausencia	<i>Enterobacter aerogenes</i>
20	5.7	Ausencia	Ausencia	<i>Citrobacter freundii</i>

Factores como el reducido número de muestras analizadas, recolectadas en un período determinado del año, el no incluir en este estudio las carnicerías establecidas y de los mercados populares, el ser recolectadas en una sola ciudad, de un punto de venta muy particular, como lo es el área de carnes en los supermercados, donde aparentemente las condiciones de proceso y manejo del producto cumplen con la normatividad vigente, pudieron ser circunstancias que influyeron de manera negativa para recuperar *Salmonella* sp. y *E. coli* O157:H7. Además que estudios realizados por otros investigadores (Franco y col., 2001; Narváez y col., 2005; Marzocca y col., 2006; Kasnowski y col., 2008; Pérez y col., 2008; Varela y col., 2008; Treviño y col., 2009; Kiermeier, 2011; Phillips y col., 2012; Vally y col., 2012), reportaron un bajo porcentaje de recuperación de estas bacterias.

A pesar de no haber aislado cepas de *Salmonella* sp. y *E. coli* O157:H7 en este estudio, se debe tomar en cuenta, que el ganado bovino es el reservorio primario (Jacob y col., 2011; Ramoneda y col., 2013) para la transmisión de agentes patógenos como *Salmonella* sp. y *E. coli* O157:H7. Por lo tanto, se recomienda mejorar el sacrificio de los animales, así como las condiciones sanitarias en rastros, ya que la contaminación de la carne en canal es el resultado directo de la transferencia de patógenos presentes en el ganado bovino y su posterior contaminación a la carne. Así lo publican diversos estudios donde argumentan que el consumo de carne de res se asocia con infecciones producidas por *Salmonella* sp. y *E. coli* O157:H7, situación que actualmente se está convirtiendo en una seria amenaza para la seguridad alimentaria en diferentes países del mundo (Evans y col., 2011; Phang y Bruhn, 2011; Vally y col., 2012; Ramoneda y col., 2013; Soborg y col., 2013).

Sería conveniente realizar estudios permanentemente, orientados a la búsqueda exhaustiva de estas bacterias

o de otros agentes patógenos, no sólo en la carne molida de res, sino en otros productos derivados del ganado bovino, mediante la implementación de técnicas moleculares, para evitar la omisión de los patógenos de interés con la aplicación de las técnicas de cultivo convencionales. Finalmente, la ausencia de *Salmonella* sp. y *E. coli* O157 en la carne de bovinos en canal no puede ser garantizada (Jure y col., 2010; Ramoneda y col., 2013).

CONCLUSIONES

No se encontró la presencia de *Salmonella* sp. ni de *E. coli* O157:H7 en las muestras analizadas; sin embargo, se detectaron otras enterobacterias como *Proteus* sp., *Citrobacter* sp., *Klebsiella* sp., *Enterobacter* sp. y *E. coli* no O157:H7. Por lo tanto, se recomienda que la carne tenga un buen proceso de cocción antes de ser consumida, además, es conveniente que se realicen estudios continuos que estén dirigidos a la identificación de estas bacterias o de otros microorganismos, mediante el uso de técnicas moleculares. ■

AGRADECIMIENTOS

M. en C. Alma López García, del Departamento de Microbiología de la Facultad de Ciencias Químicas, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, por la identificación de la cepa de *Salmonella* sp., aislada durante la realización de la prueba preliminar, confirmada con el equipo miniAPI 20E.

Dra. Jeannette Barba León, del Departamento de Salud Pública del Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias de la Universidad de Guadalajara, quien realizó la prueba de aglutinación con suero monoespecífico O157 y confirmación por PCR, de las cepas presuntivas aisladas.

Dr. Juan Xicoténcatl-Cortés del Laboratorio de Bacteriología Intestinal del Hospital Infantil de México "Federico Gómez", por la realización de los ensayos de sensibilidad antimicrobiana a las cepas presuntivas aisladas y confirmación por PCR.

REFERENCIAS

- Almeida, C., Cerqueira, L., Azevedo, N. F., and Vieira, M. J. (2013). Detection of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis using real time PCR, immunocapture assay, PNA FISH and standard culture methods in different types of food samples. *International Journal Food Microbiology*. 161:16-22
- Arthur, T. A., Brichta-Harhay, D. M., Brosilevac J. M., Kalchayanand, N., Shackerford, S. D., Wheeler, T. L., and Koohmaraie, M. (2010). Super shedding of *Escherichia coli* O157:H7 by cattle and impact on beef carcass contamination. *Meat Science*. 86(1): 32-37.
- Bacteriological Analytical Methods (2007). Chapter 5. *Salmonella*. [En línea]. Disponible en: <http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalyticalManualBAM/ucm070149.htm>. Fecha de consulta: 18 de febrero de 2011.
- Brooks, G., Butel, J., Morse, S. y Mietzner, T. (2011). *Microbiología médica de Jawetz, Melnick y Adelberg*. México: Mc Graw Hill. 221-225 Pp.
- Cardozo, L., Martínez, R. E., Feng, P. y Villalobos, L. B. (2012). Primer aislamiento de *E. coli* no O157 productor de toxina Shiga en carnes bovina y porcina en Venezuela. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*. 32(2):107-111.
- European Center for Disease Control (2011). EU case definition: HUS caused by epidemic strain Shiga toxin 2-producing *Escherichia coli*. [En línea]. Disponible en: http://www.ecdc.europa.eu/en/healthtopics/escherichia_coli_epidemiological_data/Pages/EU_case_definition.aspx. Fecha de consulta: 14 de mayo de 2012.
- Evans, J., Knight, H., McKendrick, I. J., Stevenson, H., Varo, B. A., Gunn, G. J., and Low, J. C. (2011). Prevalence of *Escherichia coli* O157:H7 and serogroups O26, O103, O111 and O145 in sheep presented for slaughter in Scotland. *Journal of Medical Microbiology*. 60: 653-660.
- Ferens, W. A. and Hovde, C. J. (2011). *Escherichia coli* O157:H7: animal reservoir and sources of human infection. *Foodborne Pathogens Disease*. 8(4):465-487.
- Fernández, E. (2000). *Microbiología e inocuidad de los alimentos*. México: Universidad Autónoma de Querétaro. 261-303 Pp.
- Franco, U. L., Vargas, P. X., Mendoza, I. A., Bayona, R. M. y Plaza, A. (2001). Determinación de *Escherichia coli* O157 a partir de productos cárnicos y lácteos artesanales empleando dos sistemas de aislamiento. [En línea]. Disponible en: <http://redalyc.uaemex.mx/src/inicio/ArtPdfRed.jsp?iCve=49911595004>. Fecha de consulta: 11 de julio de 2011.
- Gallegos, M., Morales, A., Alvarez, G.,

- Vásquez, J., Morales, L., Martínez, I. y Maldonado, J. (2009). Caracterización de aislados de *Escherichia coli* O157:H7 en canales de bovinos y porcinos mediante PCR. *Revista Científica FCV-LUZ*. 19(2):139-146.
- Harvey, R., Champe, P. y Fisher, B. (2008). *Microbiología*. Barcelona: Lippincott William & Wilkins. 115-117 Pp.
- Hirvonen, J. J., Siitonen, A., and Kaukoranta, S.S. (2012). Usability and Performance of CRHOMagar STEC Medium in Detection of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* Strains. *Journal of Clinical Microbiology*. 50(11):3586-3590.
- Jacob, M. E., Almes, K. M., Shi, X., Sargeant, J. M., and Nagaraja, T. G. (2011). *Escherichia coli* O157:H7 genetic diversity in bovine fecal samples. *Journal Food Protection*. 74(7):1186-1188.
- Jeffrey, C. P. (2010). *Alcamo's Fundamentals of Microbiology*. United States: Jones and Bartlett International Edition. 843 Pp.
- Jure, M. A., Condori, S., Leotta, G. A., Chinen, I., Miliwebsky, E., Allori, C., Aulet, O. y de-Castillo, M. C. (2010). Detección, aislamiento y caracterización de *Escherichia coli* productor de toxina Shiga a partir de carne molida fresca proveniente de carnicerías de Concepción, provincia de Tucumán. *Revista Argentina de Microbiología*. 42(4):284-287.
- Kasnowski, C. M., Franco, R. M., Trindade, O. L. A., Valente, A.M., Carvalho, J. C. y Conte, J. A. C. (2008). Detección, caracterización serológica y antibiogramas de *Escherichia coli* aisladas de carne de ternera (babilla) entera y picada. *Revista de la Facultad de Salud Pública y Nutrición*. [En línea]. Disponible en: <http://www.respyn.uanl.mx/ix/3/index.html>. Fecha de consulta: 20 de mayo de 2011.
- Kiermeier, A., Mellor, G., Barlow, R., and Jensen, I. (2011). Assumptions of acceptance sampling and the implications for lot contamination: *Escherichia coli* O157 in lots of Australian manufacturing beef. *Journal of Food Protection*. 74(4):539-544.
- León, T. G., Gómez, C. Z., Cabrera, M. C., Pérez, F. M. S., Gutiérrez, P. Y., Nava, G. N. M., García, G. A. y Barba, L. J. (2011). Búsqueda de *Salmonella* y *Escherichia coli* O157:H7 en heces de pacientes adultos de la zona metropolitana de Guadalajara. En: Cabrera, E. D. (1ª Ed), *Antología de trabajos de investigación en inocuidad de alimentos*: pp. 140 - 147. Guadalajara, Mex: Editorial Universidad de Guadalajara.
- Marzoçca, M. A., Marucci, P. L., Sica, M. G. y Álvarez E. E. (2006). Detección de *Escherichia coli* O157:H7 en carne picada fresca y hamburguesas congeladas. *Revista Argentina de Microbiología*. 38:38-40.
- McCollum, J. T., Williams, N. J., Beam, S. W., Cosgrove, S., Ettestad, P. J., Ghosh, T. S., Kimura, A. C., Nguyen, L., Stroika, S. G., Vogt, R. L., Watkins, A. W., Weiss, J. R., Williams, I. T., and Cronquist, A. B. (2012). Multistate outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infections associated with in-store sampling of an aged raw-milk Gouda cheese, 2010. *Journal Food Protection*. 75(10):1759-1765.
- Narváez, C. A., Parra, K. C., Huerta-Leidenz, N., Rodas-González y Arenas, M. L. (2005). Aislamiento de *Salmonella* y *E. coli* patógenas durante el procesamiento de hamburguesas en una pequeña planta de Maracaibo, Venezuela. *Revista Científica FCV-LUZ*. 15(6):551-559.
- Pérez, Ch. M. L., Guerrero, L. I. y Ponce, A.E. (2008). Detección de microorganismos patógenos e indicadores en carne de bovino que se expende en supermercados de la ciudad de México. *Nacameh*. 2(2):188-194. [En línea]. Disponible en: <http://www.cbs.izt.uam.mx/nacameh>. Fecha de consulta: 10 de diciembre de 2010.
- Phang, H. S. and Bruhn, C. M. (2011). Burger preparation: what consumers say and do in the home. *Journal Food Protection*. 74(10):1708-1716.
- Phillips, D., Bridger, K., Jensen, I. and Summer, J., (2012). An Australian national survey of the microbiological quality of frozen boneless beef and beef primal cuts. *Journal Food Protection*. 72(10):862-1866.
- Organización Mundial de la Salud (2011). Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC). [En línea]. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs125/es/>. Fecha de consulta: 18 de febrero de 2012.
- Ramonedá, M., Foncuberta, M., Simón, M., Sabaté, S., Ferrer, M.D., Herrera, S., Landa, B., Musté, N., Martí, R., Trabado, V., Carbonell, O., Vila, M., Espelt, M., Ramírez, B., and Durán, J. (2013). Prevalence of verotoxigenic *Escherichia coli* O157 (VTECO157) and compliance with microbiological safety standards in bovine carcasses from an industrial beef slaughter plant. [En línea]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23461411>. Fecha de consulta: 2 de abril de 2013.
- Rivas, M., Leotta, G. y Chinen, I. (2008). Manual de Procedimientos, diagnóstico y caracterización de *Escherichia coli* O157 productor de toxina Shiga a partir de alimentos. WHO Global Salm Surv. [En línea]. Disponible en: <http://fos.panalimentos.org/LinkClick.aspx?fileticket=1h1ApW7G8c%3D&tabid=120&mid=460&language=es-ES>. Fecha de consulta: 20 de enero de 2010.
- Secretaría de Salud (1991). Subsecretaría de Administración y Finanzas, Dirección General de Recursos Materiales y Servicios Generales, Dirección de Suministros. Instructivo para la entrega de insumos médicos y bienes en los almacenes de la Secretaría de Salud. [En línea]. Disponible en: http://www.salud.gob.mx/c_adm_finanzas/doctos/instructivo_entrega.pdf. Fecha de consulta: 20 de enero de 2010.
- Secretaría de Salud (1994a). Proyecto de Norma Oficial Mexicana NOM-109-SSA1-1994. Bienes y servicios. Procedimientos para la toma, manejo y transporte de muestras de alimentos para su análisis microbiológico. [En línea]. Disponible en: <http://legismex.mty.itesm.mx/normas/ssa1/ssa1109p.pdf>. Fecha de consulta: 21 de enero de 2010.
- Secretaría de Salud (1994b). Norma Oficial Mexicana NOM-110-SSA1-1994. Bienes y servicios. Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico. [En línea]. Disponible en: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/092ssa14.html>. Fecha de consulta: 21 de enero de 2010.
- Secretaría de Salud (1994c). Norma Oficial Mexicana NOM-092-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa. [En línea]. Disponible en: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/110ssa14.html>. Fecha de consulta: 24 de enero de 2010.
- Secretaría de Salud (1994d). Norma Oficial Mexicana NOM-114-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la determinación de *Salmonella* en alimentos. [En línea]. Disponible en: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/114ssa14.html>. Fecha de consulta: 24 de enero de 2010.
- Soborg, B., Lassen, S. G., Muller, L., Jensen, T., Ethelberg, S., Molbak, K., and Scheutz, F. (2013). A verocytotoxin-producing *E. coli* outbreak with a surprisingly high risk of haemolytic uraemic syndrome, Denmark, September - October 2012. [En línea]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23324425>. Fecha de consulta: 2 de abril de 2013.
- Treviño, L. R. A., Mata, T. V., Espinoza, M. A., Martínez, V. I. O., Morales, L. A., Álvarez, O. G. y Gallegos, R. M. A. (2009). Detección de *Escherichia coli* O157:H7 en carne fresca de res mediante PCR multiplex. *Revista de la Facultad de Salud Pública y Nutrición*. 10(2). [En línea]. Disponible en: <http://www.medigraphic.org.mx>. Fecha de consulta: 25 de marzo de 2011.
- Vally, H., Hall, G., Dyda, A., Raupach, J., Knope, K., Combs, B., and Desmarchelier, P. (2012). Epidemiology of Shiga toxin producing *Escherichia coli* in Australia, 2000 - 2010. [En línea]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22264221>. Fecha de consulta: 2 de abril de 2013.
- Varela, G., Chinen, I., Gadea, P., Miliwebsky, E., Mota, M. L., González, S., González, G., Gugliada, M. J., Carbonari, C. C., Algorta, G., Bernadà, M., Sabelli, R., Pardo, L., Rivas, M. y Schelotto, F. (2008). Detección y caracterización de *Escherichia coli* productor de toxina Shiga a partir de casos clínicos y de alimentos en Uruguay. *Revista Argentina de Microbiología*. 40(2):93-100.